



Revue Francophone des Laboratoires



**Volume 2016, Issue 478,
Pages 3-77
(January 2016)**

 [LEMONDEDESPHARMACIENS](http://www.lemondepharmaciens.com)

 [LEMONDEDESPHARMACIENS](https://www.facebook.com/lemondepharmaciens)

 [#LemondedesPharm](https://twitter.com/LemondedesPharm)

Elsevier Masson SAS
Société par actions simplifiées
à associé unique
au capital de 47 275 384 €
RCS Nanterre B 542 037 031
62, rue Camille-Desmoulins
92130 Issy-les-Moulineaux



Tél./Fax : 01 71 16... + les 4 chiffres
de votre correspondant
<http://www.elsevier-masson.fr>

PRÉSIDENT ET DIRECTEUR DE LA PUBLICATION :
Daniel Rodriguez

RÉDACTRICE EN CHEF :
Martine Tirouche (54 63)
m.tirouche@elsevier.com

CONSULTANT SCIENTIFIQUE DE LA RÉDACTION :
Claude Naudin
clinaudin@numericable.fr

COLLABORATEURS DE LA RÉDACTION :
Revue de presse :
Joël Gozlan, Vincent Maréchal, Michel Segondy
Actualités — Santé publique — Veille juridique :
Jean-Marie Manus

FAX-RÉDACTION : 01 71 16 51 59

MARKETING – RESPONSABLE DE MARCHÉ :
Sonia Tadjdet (58 60)
s.tadjdet@elsevier.com

PUBLICITÉ – DIRECTEUR DES VENTES :

Jean-Marie Pinson (53 10)
Mobile : 06 15 72 16 73
j.pinson@elsevier.com

SERVICE ABONNEMENTS :

Tél. : 01 71 16 55 99 – Fax : 01 71 16 55 77
<http://www.em-consulte.com/infos>

PAO : humancom, 48 rue de Dantzig, 75015 Paris.

IMPRESSION :
Lescure Théol, 27 Douains.

Copyright © 2015 — Elsevier Masson SAS — Tous droits réservés. Cette publication et son contenu sont protégés par le copyright de Elsevier Masson SAS, et les dispositions suivantes s'appliquent à son utilisation : Les simples photocopies d'articles isolés sont autorisées pour un usage privé, dans la mesure où les lois nationales relatives au copyright le permettent. L'autorisation de l'éditeur et le paiement de redevances est obligatoire pour toutes les autres photocopies, y compris les copies multiples ou systématiques, les copies effectuées à des fins promotionnelles ou de publicité, la revente et toute autre forme de distribution de documents. Des tarifs spéciaux sont disponibles pour les institutions d'enseignement qui souhaitent faire des photocopies à des fins non commerciales d'enseignement. Les personnes peuvent obtenir les autorisations nécessaires et payer les redevances correspondantes auprès du Centre Français d'Exploitation du Droit de la Copie (20, rue des Grands-Augustins, F – 75006 Paris). Les abonnés sont autorisés à effectuer des copies des tables des matières, ou établir des listes d'articles comprenant des extraits pour un usage interne à l'intérieur de leurs institutions. L'autorisation de l'éditeur est requise pour toute revente ou divulgation en dehors de l'institution. L'autorisation de l'éditeur est requise pour tous autres travaux dérivés, y compris les compilations et les traductions. L'autorisation de l'éditeur est requise pour saisir de façon électronique tout élément contenu dans la présente publication, y compris tout ou partie d'un article. Prière de prendre contact avec l'éditeur à son adresse indiquée ci-dessus. À l'exception de ce qui est indiqué ci-dessus, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite, saisie dans un système de sauvegarde, ou transmise sous quelque forme que ce soit, électronique, mécanique, par photocopie, enregistrement ou autre, sans l'autorisation préalable et écrite de l'éditeur. La responsabilité de l'éditeur ne saurait en aucune façon être engagée pour tout préjudice et/ou dommage aux personnes et aux biens, que cela résulte de la responsabilité du fait des produits, d'une négligence ou autre, ou de l'utilisation de tous produits, méthodes, instructions ou idées contenus dans la présente publication. En raison de l'évolution rapide des sciences médicales, l'éditeur recommande qu'une vérification extérieure intervienne pour les diagnostics et la posologie.

CPPAP 0117 T 81120 – ISSN 1773-035x
Dépôt légal : à parution

Couverture

© Danielle Canioni / Ludovic Lhermitte.

Index des annonceurs

Bio-Rad	4 ^e de couv.
Elsevier Masson	4 - 28 - 42 - 50 - 58 - 66
Fumouze Diagnostics	17
Journées de Biologie Clinique	7
Sakura	2 ^e de couv.

édito

Prêts pour la PrEP ?

PrEP : *pre-exposure prophylaxis*, terme forgé outre-Atlantique, une référence qui va entrer dans le langage médical, peut-être dans les dictionnaires des termes médicaux. C'est actuellement le seul moyen médical préventif, basé sur l'association de 2 antirétroviraux, ayant fait leur preuve pour stabiliser l'infection à VIH, qui repousse le virus dans des niches où il cesse de se répliquer, favorisant stabilité de la charge virale et reconstitution des CD4.

Depuis 2012 le Truvada® est prescrit aux USA en prévention de l'infection à VIH, chez les homosexuels masculins, chez les hétérosexuels très actifs, chez les usagers de drogues injectables partageant les seringues (vectrices de VIH). Mais pour les CDC plus d'un million 200 000 adultes sont à risque de contracter une infection à VIH, justiciables d'une PrEP « ou d'autres méthodes de prévention » (le préservatif, bien sûr).

Il y a donc encore beaucoup de sujets à qui prescrire le Truvada®, et cela s'explique : il reste encore une prescription de spécialistes, a expliqué, au cours d'une conférence de presse des CDC, le Dr Anne Suchat, directeur adjoint.

« Un corpus croissant de recherche indique que la PrEP est hautement efficace à prévenir l'infection à VIH quand elle est utilisée de façon constante [l'observance, toujours !] La PrEP pourra seulement faire la différence si tous les professionnels de santé (*health care providers*) – pas seulement les spécialistes des maladies infectieuses – y sont sensibilisés et comprennent qui peut le plus en bénéficier, et si les sujets à plus fort risque d'infection à VIH savent que la PrEP peut être une option de prévention ».

Une information sur la PrEP en dehors du cercle des infectiologues est nécessaire¹. Même aux USA, qui pourtant l'ont « inventé », la sensibilisation au traitement préventif reste basse chez les sujets à risque et chez les *health care providers*, dit le Dr Suchat. Il y a bien quelques initiatives très productives, trop rares, comme celle du service de santé de la ville de New York.

L'annonce par la ministre de la Santé que la France va tester le Truvada® en 2016² a suscité la même réaction que le Dr Suchat de la part de Warning, ONG à la pointe de l'information sur le VIH : il faudra autoriser sa prescription par les généralistes aussi. Le débat ne fait que commencer...

RFL

[1] Un généraliste/infirmier sur 3 n'a jamais entendu parler de la PrEP (CDC)

[2] Voir Actualités générales page 15.

Conseil scientifique

PRÉSIDENT : Paul LAFARGUE (Paris).

BUREAU : Bruno BAUDIN (Paris), Dominique CHABASSE (Angers), Alain CHEVAILLER (Angers), Éric GARNOTEL (Marseille), Michèle IMBERT (Créteil), Marie-Laure JOLY-GUILLOU (Angers), Marc MAYNADIÉ (Dijon), Michel SEGONDY (Montpellier).

COMITÉ :

MEMBRES FRANÇAIS : Michel AUDRAN (Montpellier), Frédéric BARBUT (Paris), Patrice BOURÉE (Le Kremlin-Bicêtre), René CHERMETTE (Maisons-Alfort), Claude GUIGUEN (Rennes), Paul HOFMAN (Nice), François JEHL (Strasbourg), Saïd KAMEL (Amiens), Marie-Nathalie KOLOPP-SARDA (Lyon), Jean-Jacques LATAILLADE (Clamart), Jean-Philippe LAVIGNE (Nîmes), Jérôme LE GOFF (Paris), Michèle MALET (Caen), Vincent MARÉCHAL (Paris), Denis MASSIGNON (Lyon), Thierry MOLINA (Paris).

MEMBRES ÉTRANGERS : Smail BELAZZOUG (Algérie), Ahcène DEMBRI (Algérie), Hicham OUZZANI (Maroc), Lassaad SARRAI (Tunisie), Abderrahim TAZI (Maroc).

MEMBRES HONORAIRES : Marie-Hélène BESSIÈRES (Toulouse), Jean-Louis KOECK (Bordeaux), Anne-Marie MANEL (Champagne-au-Mont-d'Or), Jean-Claude NICOLAS (Chatou/Princeton, USA), Michel VAUBOURDOLLE (Paris).

Abusus non tollit usum

Prestations de conseil (7)

À propos d'une cytolysse modérée chronique

La demande d'examens de biologie médicale à caractère d'évaluation périodique («check-up»), voire systématique, est fréquente. Le «bilan hépatique» en est un exemple. Il se compose de l'association des transaminases (ALAT / ASAT/ γ GT) à celle de la trilogie Cholestérol, HDL-cholestérol, TG). Il s'y ajoute souvent une glycémie à jeun, un TP, voire une NFS sans oublier l'incontournable «VS».

Les résultats de ces types de demande doivent être regardés avec attention par le biologiste; certains d'entre eux peuvent conduire à une prestation de conseil judicieuse voire prémonitoire.

Cas clinique

Un homme de 50 ans, venu pour un bilan prescrit par son médecin référent demande au biologiste-responsable une interprétation de son compte rendu de résultats dont quelques éléments figurent ci-dessous :

ASAT 1,2 x N, ALAT 0,5 x N,
Bilirubine totale et PAL N, γ GT 1,6 x N,
Glycémie à jeun à 7,2 mmol L⁻¹ (1.30 g L⁻¹),
Cholestérol total 6.5 mmol L⁻¹ (2.52 g L⁻¹),
HDL 0.9 mmol L⁻¹ (0.35g L⁻¹),
LDL 3.6mmol L⁻¹ (1.4g L⁻¹),
TG 3,5 mmol L⁻¹ (3.07 g L⁻¹),
Plaquettes 270 G L⁻¹, TP 100%

Ionogramme N,
Sérologies HIV, EBV, CMV, VHA négatives.

À 2 ans:

ASAT 3 x N, ALAT 2 x N,
Bilirubine totale 72 μ mol L⁻¹ et PAL 4 x N, γ GT 5 x N,
Plaquettes 174 GL⁻¹, TP 71%, Facteur V 100%
Ionogramme N

À 5 ans:

ASAT 4 x N, ALAT 2 x N,
Bilirubine totale 56 μ mol L⁻¹ (conjuguée 28) et PAL 1.5 N, c 5 x N,
Plaquettes 130 G L⁻¹, TP 55% Facteur V 100%,
Ionogramme N,
Albuminémie 29 g L⁻¹

Les renseignements cliniques complémentaires

Au regard des résultats (ALAT, γ GT, Glycémie, et EAL) le biologiste s'enquiert de l'anamnèse qui évoque une consommation d'alcool déclarée modérée et l'absence de prise de xénobiotiques. Le poids et la taille du patient permettent de calculer son indice de masse corporelle (IMC ou BMI en anglais) à 27; le patient déclare d'autre part une TA de 150/90 mm Hg ainsi qu'une asthénie et quelques arthralgies.

Ce tableau confronté à la lecture du compte rendu incite à recommander à ce patient de revoir son médecin traitant pour contrôler à distance cette cytolysse minime afin d'en affirmer le caractère transitoire ou persistant et d'en préciser la ou les étiologies dans un contexte déjà évident de syndrome métabolique à corriger (conjugaison d'une HTA, d'un surpoids, d'une dyslipidémie et d'un trouble de l'assimilation des glucides).

L'évolution des résultats d'examens au cours du suivi

Le biologiste revoit successivement ce patient au cours de ses examens ultérieurs de suivi, toujours prescrits par son médecin traitant qui se résume comme suit:

À 6 mois de distance:

ASAT 3 x N, ALAT 2 x N,
Bilirubine totale et PAL N, γ GT 3 x N,
Plaquettes 179 G L⁻¹, TP 100%,
Hémoglobine glyquée 59 mmol / mol soit 7.5%,

Deux questions doivent être posées:

1. Quelle(s) prestation(s) de conseil aurai(en)t pu être effectuée(s) auprès du médecin traitant ?
2. Comment doit être interprétée cette évolution délétère des résultats ?

La revue de la prescription et l'interprétation

• La recherche initiale des étiologies:

Les phases initiales de la prise en charge de ce patient, objectivant la présence d'une cytolysse modérée chronique, auraient du faire rechercher préférentiellement les marqueurs d'infection virale (VHB et VHC notamment) de part la prévalence des ces infections, même en l'absence de facteurs de risque évidents.

L'existence d'un diabète, couplé à une Asthénie (inexpliquée), des Arthralgies et des Aminotransférases élevées (règle des 3 A), aurait du conduire également à la recherche d'une possible surcharge martiale (Ferritine).

• Les résultats des examens de suivi successifs:

Le bilan à 6 mois, montrant une élévation de la γ GT et une cytolysse significatives incitaient à rechercher (déjà) une possible stéatose sans stéato- hépatite (NASH ou NAFLD – voir encadré 1), grâce à des scores biologiques composites (voir encadré 2).

Le bilan à 2 ans, objectivait, par l'élévation significative des PAL et de la γ GT, une cholestase à explorer, mais sans insuffisance hépatocellulaire significative à ce stade (seuls les facteurs vitamine K dépendants étant altérés: II, VII, IX et X avec un TP limite



© BURGER/PHANIE

mais un facteur V normal). Le taux de plaquettes restant normal n'évoquait pas encore une cirrhose.

Le bilan à 5 ans, qui mettait en évidence des signes conjoints très significatifs de cytolysse, d'insuffisance hépatique (↘TP et albuminémie, hyper-bilirubinémie mixte), et d'hypertension portale (thrombopénie), devait faire redouter une évolution irréversible de ce patient vers une cirrhose, voire un hépato-carcinome.

Enfin le bilan initial du diabète avec notamment la recherche d'une MRC - créatininémie et albuminurie (voir Prestations de conseil 5 et 6) ainsi que la planification des examens de suivi ultérieurs ne semblent pas avoir été conformes aux recommandations ou, les cas échéant, ne pas avoir été respectés par le patient.

Synthèse et conclusion

Le bilan d'une cytolysse doit être mené en fonction du terrain, et en ayant à l'esprit :

- La fréquence de la stéatopathie métabolique (75% des causes d'↗ des transaminases en médecine générale) (*voir encadrés 1, 3 et 4*).

- Son caractère fréquemment révélateur d'un syndrome métabolique à rechercher (Glycémie à jeun, score de HOMA / QUICKI, BEAL, tour de taille, TA), et à prendre en charge (*voir encadré 2*),
- Sa responsabilité comme cofacteur de comorbidités de toutes les autres hépatopathies,
- Son évolution possible vers la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire seul ou en association à d'autres hépatopathies.

- En étant systématique sur les grandes causes classiques de cytolysse :

- l'alcool,
- les virus,
- la surcharge en fer

- En connaissant l'existence des causes hépatiques plus rares (hépatites auto immunes, Wilson, déficit en A1AT,...) , ou de causes extra hépatiques (TSH; CPK si ASAT/ ALAT >1).

Enfin, c'est juste notre avis.

Fabrice Guerber
fabrice.guerber@oriade.fr

Claude Naudin
clnaudin@numericable.fr

Encadré 1

NAFLD (Non alcoholic fatty liver disease) ou SHNA NASH (Stéatohépatite non alcoolique)

Ne pas négliger une stéatose simple = NAFLD

Son diagnostic ne doit pas être oublié en sous estimant la portée d'une hypertransaminasémie modérée chronique.

La découverte d'une SHNA est le plus souvent fortuite (augmentation de la transaminasémie).

Le plus souvent, les patients atteints de la SHNA possèdent des facteurs de risque métabolique comme l'obésité, le diabète, la dyslipidémie (syndrome métabolique).

La stéatohépatite (NASH) est la complication de la SHNA et s'accompagne d'une inflammation et d'une atteinte hépatocytaire.

L'insulino-résistance, les cytokines pro-inflammatoires adipocytaires, le relargage des acides gras par la lipolyse adipocytaire, le microbiote intestinal (endotoxémie circulante) gouvernent une physiopathologie complexe où l'examen échographique, les tests non invasifs (fibroscan®), voire la ponction biopsie ont une position déterminante. L'évaluation régulière permet de suivre et d'éviter, si possible, l'évolution vers la fibrose puis la cirrhose.

La SHNA est responsable de 60 à 75 % des perturbations du « bilan hépatique » non justifiées par d'autres causes. C'est la complication du syndrome métabolique avec au moins 3 éléments parmi : l'obésité centrale, le taux de TG augmenté et la diminution du HDL- cholestérol, l'élévation de la glycémie et de la pression artérielle.

Le complexe métabolique de NASH est constitué d'un excès d'acides gras saturés avec flux augmenté vers le foie et les muscles, d'une activité physique insuffisante et d'une « inflammation métabolique » (rôle des adipokines - leptine, et adiponectine -), ainsi que d'une résistance à l'insuline (*Voir encadrés 3 et 4*).

La morbi-mortalité cardiaque est * 5 ; le risque de cancer hépatocellulaire avec ou sans cirrhose est important.

Le gène PNPLA3 (rs 738409 C>G) intervient dans les modifications du flux d'acides gras et de triglycérides, de la progression de NASH et de la fibrose.

Encadré 2

Score de HOMA / QUICKI

Le score Homa, (peu fiable chez le diabétique), permet d'évaluer l'insulino-résistance. Il est calculé à partir de la glycémie à jeun et de l'insulinémie à jeun.

Indice Homa < 2,4tolérance normale

Indice Homa 2,4 à 4résistance à l'insuline

Indice Homa > 4diabète type 2 léger

Indice Homa > 6diabète de type 2

Le score QUICKI (quantitative insulin sensitivity check index)

La transformation logarithmique du calcul HOMA est préférable, selon la formule :

$1 / [\log \text{insuline à jeun } (\mu\text{U mL}^{-1}) + \log \text{glycémie à jeun } (\text{mg dL}^{-1})]$

Ce score est diminué chez l'insulino-résistance.

Encadré 3

Leptine

(du Grec «leptos» = mince)

Molécule codée par le gène «ob» situé sur le chromosome 7. Hormone de l'adipocyte, elle est également synthétisée par les cellules trophoblastiques et les cellules épithéliales gastriques.

La leptine franchit la barrière hémato-encéphalique. Son niveau de concentration plasmatique diminue en période diurne et est maximal entre 22 h et 3 h.

L'insuline est un activateur de l'expression de l'ARNm «ob adipocytaire» (forte corrélation positive).

Le taux de leptinémie est plus élevé chez la femme (rôle inhibiteur des androgènes)

La distribution ubiquitaire des récepteurs Ob-R explique que la leptine soit concernée par différentes fonctions physiologiques.

Les récepteurs de la leptine (récepteurs ob-R) sont présents dans les îlots de Langerhans (effet d'inhibition de l'hyperglycémie et de l'hyperinsulinisme post-prandiaux).

Bien que la leptine ait un effet régulateur négatif sur la prise alimentaire, de façon paradoxale, le taux de leptine est augmenté chez les obèses, dans leur grande majorité (exception faite des cas d'obésité par déficience congénitale en leptine par mutation (insertion et décalage de la phase de lecture). Ce phénomène de «leptino-résistance» peut s'expliquer en constatant que le rapport leptinorachie / leptinémie est très <1.

L'hyperleptinémie observée dans les stéatoses hépatiques et les cirrhoses pourrait être liée à la capacité de sécrétion de leptine par les cellules stellaires du foie. Ainsi la leptine, via une activité pro-inflammatoire, pourrait participer au développement d'une inflammation hépatique et d'une fibrose.

Encadré 4

Adiponectine

L'adiponectine, est une protéine de 247 AA, sécrétée uniquement par l'adipocyte mature, améliore la sensibilité à l'insuline dans les muscles squelettiques et dans le foie, en stimulant l'oxydation des acides gras et l'utilisation du glucose (rôle des PPAR γ). Sa concentration est inversement corrélée à la résistance à l'insuline et à la triglycéridémie.

Le PPAR γ (Peroxisome Proliferator Activated Receptor) est un facteur de transcription impliqué dans la différenciation adipocytaire et l'homéostasie glucidique (augmentation de l'expression des transporteurs de glucose GLUT4).

Des concentrations basses d'adiponectine circulante sont retrouvées chez les diabétiques. Une mutation (1664T) a été associée chez des sujets japonais au syndrome métabolique et au diabète de type 2.

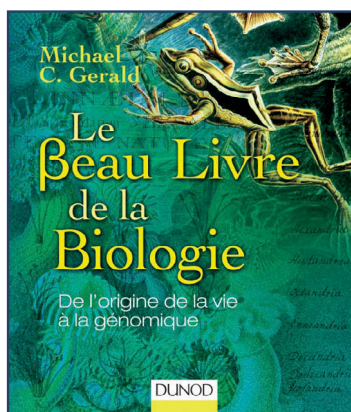
AdipoR1 et adipoR2 (récemment clonés) sont des récepteurs de l'adiponectine respectivement situés au niveau du muscle et du foie.

LIVRES

Le Beau Livre de la biologie De l'origine de la vie à la génomique

Du premier ancêtre commun au séquençage du génome humain, chaque étape de ce livre de la Vie est magnifiquement illustrée. Sont également présents les plus grands savants Charles Darwin, Louis Pasteur ou Gregor Mendel... Des premières cellules au séquençage du génome humain, ce livre retrace en 250 grandes étapes la fabuleuse histoire du vivant et des découvertes en biologie.

Chaque étape est expliquée et illustrée par une magnifique image. Les plus grands savants sont présents retrouvez Charles Darwin, Louis Pasteur ou encore Gregor Mendel! Vous pouvez plonger dans ce livre et le lire d'une seule traite, ou bien le déguster au gré de vos envies,



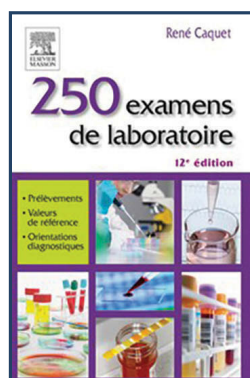
pour découvrir les beautés et les mystères du monde vivant. Au sommaire 250 étapes de l'histoire de la biologie : de 4 milliards d'années avant notre ère, le premier ancêtre commun à 2012, la révolution de l'épigénétique. L'auteur, professeur émérite de la Faculté de pharmacie de l'Université du Connecticut, est l'auteur de nombreux articles et ouvrages de vulgarisation. Il a publié chez le même éditeur dans la même collec-

tion *Le Beau Livre des remèdes et des médicaments, des plantes médicinales aux thérapies géniques*. ■■

Michaël C. Gerald. Collection Les Beaux Livres du Savoir. 528 p. Éditions Dunod. www.dunod.com

250 examens de laboratoire

Voici la douzième édition de ce classique, une actualisation nécessaire. Chaque année en effet apparaissent de nouveaux moyens de diagnostic et de traitement modifiant notre manière de comprendre et de guérir. Cette douzième édition, totalement refondue et actualisée, donne au praticien tout ce qu'il faut savoir pour prescrire les examens de biologie médicale et en interpréter les résultats. L'ouvrage place chaque examen dans une démarche diagnostique, décrivant les examens les plus performants ou les plus adaptés aux données de la clinique. Entièrement revu, ce livre présente de manière simple plus de 250 examens de laboratoire sous forme de fiches classées par ordre alphabétique. Chaque fiche en précise les indications, les précautions éventuelles de prélèvement, les



valeurs normales et guide l'interprétation des valeurs pathologiques. Cette édition intègre les avancées récentes de la biologie médicale dans de nombreux domaines, tels les examens de biologie moléculaire qui font désormais partie de la pratique quotidienne. Un index très fourni facilite l'usage du livre par le praticien qui dispose ainsi d'un outil de travail indispensable et efficace. La partie 1 de l'ouvrage détaille les examens de laboratoire courants et les valeurs normales : sang, urine, liquide céphalo-rachidien, numération globulaire, numération et formule sanguine en fonction de l'âge, hormones. La partie 2 présente les examens de laboratoire classés par ordre alphabétique. ■■

René Caquet. 576 p. Éditions : Elsevier Masson.

AGENDA

janvier-avril 2016

24^e GEFH/Groupe d'études français d'Helicobacter

29 janvier 2016

Bordeaux

<http://www.helicobacter.fr/>

Biomarkers Congress, clinique, génomique

25-26 février 2016

Manchester

www.biomarkers-congress.com

Asian oncology summit

3-6 mars 2016

Kyoto

www.asianoncologysummit.com

Société française d'hématologie

23-25 mars 2016

Paris

www.sfhematologie.net

Salon de podologie

1^{er}-2 avril 2016

Paris

www.salonpodologie.com

26th ECCMID/European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

9-12 avril 2016

Istanbul

www.eccmid.org

Translational microbiome conference

20-21 avril 2016

Boston

www.microbiomeconference.com

Conférence internationale Euthanasia 2016

11-14 mai 2016

Amsterdam

www.euthanasia2016.com

AACE/American association of clinical endocrinologists

25-29 mai 2016

Orlando (Floride)

www.aace.com

EAACI/European Allergy & Clinical Immunology

11-15 juin 2016

Vienne (Autriche)

www.eaaci2016.org



Sérovaccination et risque résiduel de transmission périnatale du VHB

La transmission périnatale du virus de l'hépatite B (VHB) est un événement fréquent lorsque le virus est présent pendant la grossesse : une infection chronique survient alors chez environ 90 % des enfants infectés à la naissance.

Une immunoprophylaxie est donc recommandée chez le nouveau-né issu de mère infectée par HBV, par administration d'immunoglobulines anti-VHB et d'une dose de vaccin dans les 12 premières heures de vie, suivie de doses de vaccin de rappel à 1 et 6 mois. Ce protocole de sérovaccination entraîne une réduction d'environ 95 % du risque d'infection néonatale à VHB.

Une étude à grande échelle réalisée aux USA chez 17951 couples mère/enfant,

dont la mère était positive pour l'antigène HBs, a fait l'analyse des facteurs pouvant jouer un rôle dans le risque résiduel d'infection périnatale. Les résultats pour

Le risque résiduel est de l'ordre de 1 % et pourrait être encore réduit.

l'antigène HBs étaient disponibles pour 9252 (51,5 %) enfants et 100 (1,1 %) ont présenté une infection périnatale à VHB. Les facteurs associés à l'infection étaient le jeune âge de la mère, l'origine Asie/Pacifique de la mère, la positivité de

l'antigène HBe, la négativité des anticorps anti-HBe, une charge virale VHB supérieure à 2000 UI/mL et l'administration de moins de 3 doses de vaccin à l'enfant.

Cette étude confirme donc l'efficacité du protocole de séro-vaccination des nouveau-nés nés de mère porteuse du VHB avec un risque résiduel de l'ordre de 1 %. Une réduction de la charge virale pendant la grossesse par un traitement antiviral et l'administration de toutes les doses de vaccin préconisées permettrait probablement de réduire encore ce risque. ■■

Schillie S, Walker T, Veselsky S et al. *Pediatrics* 2015, 135 :e1141-1147.

Intérêt de tests génomiques avant chimiothérapie du cancer du sein

La décision d'associer une chimiothérapie à l'arsenal thérapeutique dans le cancer du sein de stade I ou II avec récepteurs hormonaux et sans atteinte ganglionnaire, intégrant chirurgie et hormonothérapie, est lourde de conséquence. Certaines patientes peuvent être traitées inutilement par chimiothérapie, sans bénéfice réel mais risque d'effets secondaires dus à sa toxicité. Mais il est également possible que des patientes nécessitant une chimiothérapie n'en bénéficient pas, faute d'éléments histologiques précis. Dans les critères permettant de préciser le protocole thérapeutique, la taille et le grade de la tumeur, l'âge de la patiente, la présence ou non de récepteurs hormonaux et de ganglions envahis sont des éléments nécessaires mais non suffisants.

La signature moléculaire de profils géniques anticipant le bénéfice de la chimiothérapie et la probabilité de récurrence ont permis de proposer des tests pronostiques/prédictifs, telle la signature génomique du test *Oncotype dx*, de Genomic Health (USA), identifiée sur un ensemble de gènes associés au cancer du sein, dont l'expression de 21 d'entre eux était cor-

rélée à la survie sans récurrence à distance. Dans une étude prospective, J.A. Sparano et coll. révèlent dans le *New England Journal of Medicine*, comment, à partir d'une PCR quantitative de l'expression des 21 gènes sur coupes de tissu tumoral, ce test permet de prédire la probabilité

Un panel de 21 gènes tumoraux peut identifier les patientes ne nécessitant pas une chimiothérapie.

de bénéfice d'une chimiothérapie adjuvante et de quantifier le risque de récurrence chez les patientes ayant un cancer de stade I ou II avec récepteurs hormonaux et sans atteinte ganglionnaire. Chez 10253 patientes de 18 à 75 ans, les auteurs ont identifié un score de récurrence de 0 à 100, où plus la valeur est élevée plus le risque de récurrence dans les 10 ans du diagnostic est important.

Ont été ainsi définis 3 groupes à risque : un score inférieur à 10 identifiant un risque

de récurrence faible chez 16 % des patientes, un score de 11 à 25 identifiant un risque intermédiaire chez 67 % et un score supérieur à 26 identifiant un risque élevé chez 17 %. Dans un essai clinique évaluant le traitement à proposer aux patientes selon leur score *Oncotype dx*, les auteurs montrent que 99 % des femmes avec score faible traitées par hormonothérapie, sans chimiothérapie, ne présentent pas de récurrence à 5 ans avec un taux de survie sans maladie invasive à 5 ans de l'ordre de 94 %. Ils concluent que la majorité des patientes avec cancer de stade I ou II, récepteurs hormonaux et sans atteinte ganglionnaire ne nécessitent pas de chimiothérapie adjuvante.

D'autres tests génomiques : *Mammaprint*, le *Mammostrat test*, *Prosigna assay* sont disponibles en Europe et aux USA et proposent des panels de gènes et des spécificités différents sans que pour l'heure leur intérêt pour l'aide à la décision thérapeutique n'ait été comparé. Leur usage aiderait à mieux adapter le traitement aux patientes. ■■

Sparano JA, et coll. *N Engl J Med*. 2015 Nov 19;373(21):2005-14.

Alzheimer, maladie iatrogène ?

La maladie d'Alzheimer est une dégénérescence progressive des neurones, surtout chez les sujets âgés, et se caractérise par le dépôt de peptides bêta-amyloïdes de conformation anormale s'agrégeant en plaques amyloïdes.

Dans une lettre parue dans *Nature*, le groupe de John Collinge et Sebastian Brandner (University College, Londres) évoque des données suggérant une possible transmission interhumaine de la pathologie amyloïde. Cette hypothèse se base sur des observations à l'occasion d'autopsie cérébrale de 8 sujets de 36 à 51 ans, décédés d'une maladie de Creutzfeldt-Jakob iatrogène post-injection d'hormone de croissance extraite d'hypophyses contaminées.

Les chercheurs auraient retrouvé, en plus des prions, des dépôts de protéine bêta-amyloïde anormale dans le parenchyme du SNC de 6 sujets et dans les parois des vaisseaux sanguins de 4 sujets, sans pour autant

qu'ils aient développé la symptomatologie Alzheimer. Après avoir vérifié que ces patients jeunes ne présentaient pas de susceptibilité génétique à la maladie précoce, les chercheurs ont émis l'hypothèse que la présence d'agrégats de protéine bêta-amyloïde anormale, contrairement à des patients contrôles atteints de maladie à prions, résulterait d'une transmission iatrogène de protéines amyloïdes par injection d'hormone de croissance contaminée par des prions.

La propagation des protéines bêta-amyloïdes par contamination de la forme normale par la forme pathologique (repliement anormal de sa structure tridimensionnelle fonctionnelle) a déjà été démontrée sur la souris par M. Jucker et coll. en Allemagne. Cette équipe a récemment publié (*Nature Neuroscience*, 2015 ; Nov;18(11):1559-61) que les peptides bêta-amyloïdes peuvent persister plusieurs mois dans le cerveau de la souris et conserver/retrouver leur caractère pathogène.

L'hypothèse sous-jacente aux travaux de J. Collinge et coll. selon laquelle l'injection d'hormone de croissance contaminée contribuerait à la pathologie cérébrale amyloïde reste à démontrer sur l'animal et à étayer sur une cohorte plus importante de patients. Une telle démonstration reste difficile car il eût fallu pouvoir injecter aux souris des extraits hypophysaires provenant des patients décédés.

Bien qu'aucune étude épidémiologique n'ait encore rapporté une possible transmission de la maladie d'Alzheimer par le sang, il est urgent de comprendre le mode de propagation de protéines bêta-amyloïdes pathologiques et de savoir si d'autres fluides biologiques ou éléments, tels des instruments chirurgicaux contaminés, participeraient à cette transmission. ■■

Jaunmuktane Z et Coll. *Nature* 525, 247–250 (10 September 2015) doi:10.1038/nature15369

Hématopoïèse splénique et greffes de CSH

Chez les mammifères, l'hématopoïèse fœtale se développe dans différents sites : foie, rate, moelle osseuse, mais chez l'Homme uniquement dans la moelle osseuse, sauf en situations pathologiques (leucémies, néoplasmes myéloprolifératifs), où rate et foie peuvent redevenir des organes hématopoïétiques. L'hématopoïèse du rongeur est médullaire et splénique, cette dernière moins active que l'hématopoïèse médullaire. L'hématopoïèse se déroule dans un micro-environnement, les niches, où les cellules souches hématopoïétiques (CSH) prolifèrent et se différencient en cellules fonctionnelles.

Dans *Nature* l'équipe de Sean Morrison montre qu'en situation de stress (perte importante de sang, myélo-ablation, gestation), la rate de la souris redevient organe hématopoïétique, et met en évidence que l'hématopoïèse se développe au sein de niches très similaires à celles décrites dans la moelle osseuse. Deux types de niches sont décrits dans la moelle : endostéales, proches de l'endosteum, et périvasculaires, au contact d'artérioles/veinules. Elles sont caractérisées par la présence de CSH au contact de cellules stromales

et endothéliales productrices de molécules impliquées dans le maintien des CSH : facteur de croissance SCF/Kit-Ligand, chimiokine CXCL12...

Pour rechercher la présence de telles cellules dans la rate, les auteurs ont utilisé des souris transgéniques chez lesquelles ces molécules ont été marquées par fluorochromes. Les résultats montrent qu'en situation d'homéostasie, ces facteurs sont produits par les cellules endothéliales et les cellules stromales périvasculaires des sinus veineux spléniques. En situation d'urgence, ces cellules permettent prolifération et différenciation de CSH issues de la moelle. Quand les auteurs provoquent une situation de stress chez des souris dont l'expression des gènes pour le SCF/Kit-Ligand ou pour le CXCL12 a été invalidée, l'hématopoïèse splénique et le nombre de cellules sanguines sont réduits sans pour autant que l'hématopoïèse médullaire soit modifiée, démontrant ainsi le rôle hématopoïétique de la rate dans ces situations. Sur le plan cognitif, ces travaux ils montrent que la rate adulte redevient organe hématopoïétique en cas d'urgence et que cette hématopoïèse de stress est dépendante

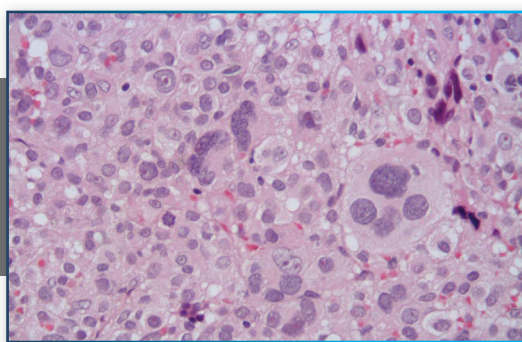
du micro-environnement splénique, en particulier des niches péri-sinusoïdales et des molécules qu'elles produisent. Sur le plan thérapeutique, ces résultats pourraient améliorer les protocoles de greffe de CSH. En effet, les conditions actuelles d'amplification des CSH ne permettent pas d'augmenter leur nombre sans qu'elles perdent en partie leur potentiel-souche. Une meilleure connaissance du rôle des niches hématopoïétiques médullaires/spléniques devrait permettre d'identifier de nouveaux facteurs maintenant cette souche et d'améliorer les protocoles de thérapie cellulaire. La compréhension du rôle respectif des niches périvasculaires/endostéales dans la différenciation des CSH en cellules myéloïdes et lymphoïdes devrait favoriser un protocole de greffe à façon.

Reste à résoudre la transposition des résultats animaux à l'Homme, en tenant compte des différences d'activité hématopoïétique de la rate chez l'Homme et la souris. ■■

Inra CN et coll. *Nature*. 2015 Nov 16. doi: 10.1038/nature15530. [Epub ahead of print].

Anatomie et cytologie pathologiques

Thierry Jo Molina^a



AVANT-PROPOS

Ce nouveau numéro d'anatomie pathologique est consacré d'une part à une pathologie rare, la mastocytose et d'autre part à un état des lieux du rôle des biopsies liquides et de la recherche des cellules tumorales circulantes en pathologie moléculaire oncologique.

Le diagnostic de mastocytose est un vrai challenge pour le pathologiste avec des spécificités liées à sa localisation. C'est un diagnostic auquel on pense rarement et à côté duquel il est facile de passer si on ne l'a pas recherché. Pourtant aujourd'hui, sa pathologie moléculaire est de plus en plus connue et des thérapies ciblées ont fait la preuve de leur efficacité en pathologie humaine et vétérinaire.

Nous avons demandé aux pathologistes et hématologues biologistes impliqués dans le Centre de Référence français des MASTocytoses (CERE-

MAST) de faire le point sur le diagnostic de cette maladie en traitant deux aspects, du point de vue de l'hématopathologiste et du point de vue du dermatopathologiste.

Dans un premier temps, les Drs Canioni et Lhermitte détaillent la classification OMS 2008 des mastocytoses différenciant notamment les mastocytoses cutanées des mastocytoses systémiques et précisent les mécanismes moléculaires conduisant le plus souvent à une activation par mutation de l'oncogène *C-KIT*. Leur article souligne l'importance de la collaboration entre le biologiste hématologiste et le pathologiste dans l'optimisation diagnostique et pronostique des mastocytoses systémiques. Après avoir détaillé et illustré de façon magistrale les différents aspects cytologiques, immunophénotypiques et de diagnostic moléculaire de la mastocytose, ils abordent le diagnostic de mastocytose sur la biopsie médullaire osseuse, en pathologie ganglionnaire et splénique. Les illustrations sont nombreuses, très utiles et de bonne qualité, soulignant le pléomorphisme de la morphologie de cette pathologie qui probablement, reflète en partie l'hétérogénéité clinique des mastocytoses. Cet article est très complet, crucial pour les étudiants. Nous le retrouverons sûrement dans de nombreuses bibliothèques de praticiens pathologistes, hématologues biologistes et cliniciens.

^a Service d'anatomie et cytologie pathologiques

Tour Pasteur – 1^{er} étage
Hôpital universitaire Necker – Enfants Malades (AP-HP)
Université Paris Descartes
149, rue de Sèvres
75730 Paris cedex 15

* Correspondance

thierry.molina@nck.aphp.fr

Le deuxième article traite des mastocytoses cutanées qui concernent en premier lieu les enfants. Le Dr Fraitag y aborde dans un premier temps l'histophysiologie normale des mastocytes au niveau cutané, indispensable à connaître pour diagnostiquer de façon idoine une mastocytose cutanée, prenant en compte l'hétérogénéité importante de répartition des mastocytes à l'état normal en fonction de la topographie. Dans un second temps, les outils (colorations, immunomarquage) nécessaires à la reconnaissance des mastocytes sont détaillés ainsi que les précautions nécessaires avant d'affirmer le diagnostic de mastocytose cutanée. Il y est souligné notamment l'importance de l'aspect clinique des lésions, le diagnostic devant être anatomoclinique afin de ne pas porter par excès ce type de diagnostic. Le Dr Fraitag relativise la valeur de la quantification précise du nombre de mastocytes ce qui est rassurant dans la mesure où le niveau de reproductibilité entre pathologiste dès que l'on aborde une quantification précise est souvent modéré. Enfin, les différentes formes anatomocliniques sont précisées en détaillant à la fois la clinique et l'histopathologie soulignant bien l'importance des deux caractéristiques pour affirmer le diagnostic. Les illustrations d'excellente qualité de ces différentes formes anatomocliniques soulignent bien l'hétérogénéité de la présentation des mastocytoses cutanées et l'extrême difficulté du diagnostic de certaines formes en l'absence de données cliniques adéquates.

La deuxième thématique de ce numéro thématique vise à faire le point sur les cellules tumorales circulantes et l'ADN tumoral circulant en tant que biomarqueur tumoral.

Un premier article par le Dr Dolfus et Collaborateurs vise à préciser les méthodologies de détection des cellules tumorales circulantes en détaillant les différentes approches basées sur une détection phénotypique ou une détection morphologique. Les avantages de chaque technique sont précisées en détaillant leur valeur diagnostique, pronostique, thérapeutique et de suivi de maladie résiduelle dans différentes applications cliniques. Ces cellules peuvent également être mises en culture pour étudier leur sensibilité à différentes drogues. Dans une seconde partie, les auteurs détaillent tout l'intérêt de l'étude de l'ADN tumoral circulant comme biomarqueur à différentes étapes de la prise en charge du cancer. Un intérêt grandissant sera la détection

sous traitement de nouvelles mutations qui pourront être secondairement ciblées. Ces techniques récentes sont en plein développement pour devenir de plus en plus rapides et aisées de manipulation. Le deuxième article du Pr Hofman fait le point sur l'apport de l'étude des cellules tumorales circulantes en oncologie thoracique, en détaillant les avantages et limites de ces études notamment dans le système de soin français. En effet, grâce à l'expérience acquise depuis de nombreuses années par cette équipe Niçoise, l'auteur souligne l'importance de la terminologie utilisée qui doit être standardisée de même que l'importance de la formation des cytopathologistes à cette technique et à son interprétation. Il revient également sur les points capitaux qui gênent le développement de cette technique, depuis la phase préanalytique (délai entre le prélèvement et son analyse notamment), jusqu'aux difficultés de structuration d'étude multicentrique de validation. Il revient enfin sur l'absence de reconnaissance du test par les autorités de santé et sa difficulté de financement même si de nombreuses études ont souligné l'apport très prometteur en termes de dépistage, de diagnostic, de pronostic.

Au total, la lecture de ce numéro vous permettra d'être parfaitement à jour sur deux sujets de maladie rare et de technologie en plein développement. À vos QCM d'évaluation après la lecture !

Sommaire thématique

- Mastocytoses systémiques : aspects cytologiques et histologiques en hématologie..... **p. 31**
- Mastocytoses cutanées..... **p. 43**
- Les biomarqueurs circulants du cancer : avantages et perspectives **p. 51**
- Les cellules tumorales circulantes en oncologie thoracique : enjeux, pièges et limites..... **p. 59**
- QCM **p. 64**

La coordination de ce dossier a été assurée par le Pr Thierry Jo Molina, Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital universitaire Necker – Enfants Malades (AP-HP), Université Paris Descartes.

Mastocytoses systémiques: aspects cytologiques et histologiques en hématologie

Danielle Canioni^a et Ludovic Lhermitte^b

RÉSUMÉ

Les mastocytoses représentent un groupe hétérogène d'affections rares, sporadiques ou familiales, liées à la prolifération clonale de mastocytes (MC) anormaux qui s'accumulent dans un ou plusieurs organes. Elles sont caractérisées par la présence multifocale d'agrégats compacts de MC anormaux dans les organes infiltrés. Leur physiopathologie est dominée par plusieurs mutations activatrices de *c-KIT* dont la plus fréquente est la mutation D816V. Le diagnostic des mastocytoses est basé sur l'identification de MC anormaux associée à des critères génétiques et moléculaires en utilisant la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) 2008. Nous décrivons ici les principaux aspects cytologiques et histologiques des mastocytoses systémiques (MS) rencontrés en hématologie et en particulier, les formes « classiques » et plus atypiques des MS médullaires, les MS associées à des hémopathies non mastocytaires myéloïdes ou non myéloïdes, la leucémie mastocytaire, les aspects histologiques de l'envahissement ganglionnaire et splénique des MS et les sarcomes mastocytaires. Enfin, nous concluons sur la place respective du myélogramme et de la biopsie médullaire dans le diagnostic des mastocytoses médullaires.

classification mastocytose – mastocyte – mutation de c-Kit – cytologie – biopsie médullaire – ganglions – rate.

1. Introduction

La mastocytose est l'une des 8 sous catégories des néoplasies myéloprolifératives (NMP) classées par l'OMS en 2008 [1].

1.1. Définition

Les mastocytoses représentent un groupe hétérogène d'affections caractérisées par la prolifération clonale néoplasique de mastocytes (MC) anormaux morphologiquement et immuno-phénotypiquement qui s'accumulent dans un

ou plusieurs organes. Elles se caractérisent par la présence multifocale de clusters compacts de MC anormaux [2].

1.2. Données épidémiologiques

Il s'agit d'une maladie rare (incidence de 2/300 000 patients/an) avec environ 400 nouveaux cas/an en France, sporadique et parfois familiale, atteignant surtout les Caucasiens. Elle peut survenir à n'importe quel âge avec des manifestations cliniques variées. Les enfants sont très souvent atteints (60-70 % des cas) avec des lésions cutanées survenant avant le 6^e mois de vie. La mastocytose de l'adulte est dominée en revanche par les formes systémiques [1].

2. Physiopathologie et génétique

2.1. Le récepteur c-KIT

Le développement du mastocyte est étroitement lié à l'expression du récepteur tyrosine kinase c-KIT (CD117) que le mastocyte exprime depuis les stades les plus précoces de différenciation. Le mastocyte représente ainsi la seule

SUMMARY

Systemic mastocytosis: cytological and histological features in hematology.

Mastocytosis is a heterogeneous group of rare, sporadic or familial diseases, due to a clonal proliferation of abnormal mast cells (MC) that accumulate in one or more organs. It is characterized by the presence of multifocal compact aggregates of abnormal MC. Mastocytosis is frequently associated with somatic activating point mutations within KIT among which the most frequent is the D816V mutation. The diagnosis of mastocytosis is based on the identification of abnormal MC associated with molecular and genetic criteria using the 2008 OMS classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues.

We describe the main cytological and histological features of systemic mastocytosis (SM) observed in hematology and in particular, the « classical » and more atypical features of bone marrow involvement in SM, the SM associated with hematological non-mast cell lineage diseases (SM-AHNMD) myeloid or non-myeloid, the mast cell leukemia, the involvement of lymph node and of spleen in MS and the mast cell sarcomas.

Finally, we conclude on the respective role of bone marrow aspirate and bone marrow biopsy in the diagnosis of mastocytosis.

mastocytosis classification – mast cell – Kit mutation – cytology – bone marrow biopsy – lymph nodes – spleen.

a Laboratoire d'anatomo-pathologie
Hôpital Necker - Enfants Malades (APHP)
149, rue de Sèvres - 75015 Paris

b Laboratoire d'onco-hématologie
Hôpital Necker - Enfants Malades (APHP)
149, rue de Sèvres - 75015 Paris

c CEREMAST
Centre de référence des mastocytoses
Hôpital Necker - Enfants Malades (APHP)
149, rue de Sèvres - 75015 Paris

d Université Paris V Descartes Médecine

* Correspondance

ludovic.lhermitte@aphp.fr - danielle.canioni@aphp.fr

article reçu le 10 octobre, accepté le 19 octobre 2015

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

cellule hématopoïétique mature à exprimer ce récepteur. La physiopathologie des mastocytoses est dominée par les mutations activatrices de *c-KIT*. Plusieurs mutations sont décrites, altérant tantôt le domaine catalytique tyrosine kinase (mutations ponctuelles essentiellement dont la plus fréquente est représentée par la mutation D816V), tantôt le domaine juxtamembranaire (JM) qui exerce une

contrainte auto-inhibitrice sur le domaine catalytique (mutations, insertions/délétions variables). Dans les deux cas, il en résulte une activité kinase constitutive de la protéine et des effets cellulaires oncogéniques (pro-prolifératifs, anti-apoptotiques). Le type de mutation diffère selon les formes de mastocytoses. Les mutations du domaine kinase sont caractéristiques de la forme adulte [3] tandis qu'elles ne sont présentes que dans 40 % des formes pédiatriques où l'on retrouve plus fréquemment les mutations de type juxta-membranaire [4]. Chez l'adulte, les formes indolentes portent généralement une mutation catalytique tandis que les formes agressives comportent soit une mutation catalytique, soit une mutation juxta-membranaire (JM) soit aucune mutation de *KIT* [5]. D'autres voies oncogéniques que la voie *KIT* sont alors impliquées dans l'oncogénèse mastocytaire, dépassant le cadre de cette revue [6]. La recherche de la mutation de *KIT* représente un élément important du diagnostic (critère mineur) [1]. La très grande majorité des laboratoires recherche la mutation catalytique D816 dont l'absence ne doit pas faire exclure le diagnostic de mastocytose. Un séquençage intégral de *KIT* et en particulier des exons 8-11 (domaine juxta-membranaire) s'impose alors à la recherche d'autres anomalies activatrices de *KIT* [5]. La très faible représentation de la population mastocytaire dans un prélèvement médullaire par exemple (< 1 %) et la présence de nombreux variants moléculaires ont conduit un groupe d'experts à formuler des recommandations précisant les modalités d'étude de *KIT* spécifiques aux mastocytoses [5]; les analyses moléculaires doivent par conséquent être réalisées de préférence en centre expert afin d'éviter de considérer à tort une fausse négativité devant l'absence de mutation D816V avec une technique de faible sensibilité. D'un point de vue clinique, l'identification des mutations de *c-KIT* est utile non seulement au diagnostic mais a également une valeur (théranostique) puisque les mutations catalytiques sont résistantes à l'imatinib alors que les mutations juxta-membranaires y sont sensibles. D'autres thérapies ciblées anti-tyrosine kinases sont néanmoins efficaces et en cours d'évaluation dans des essais thérapeutiques.

3. Diagnostic et classification des mastocytoses

Différentes entités sont distinguées dans la classification OMS selon le mode de présentation (OMS 2008) ([tableau 1](#)) [1]. Les mastocytoses cutanées sont l'apanage de la pédiatrie, et sont la plupart du temps spontanément résolutive au moment de la puberté, sans que la physiopathologie de l'extinction du clone mastocytaire ne soit clairement élucidée. Les mastocytoses systémiques à l'inverse sont d'évolution chronique persistante et atteignent l'adulte. La présentation très hétérogène s'étend sur un spectre clinique allant du simple préjudice esthétique à la mastocytose agressive pouvant mettre en jeu le pronostic vital à très court terme. Ceci justifie le démembrement en différentes sous-catégories nosologiques. La peau est atteinte dans 80 % des Mastocytoses, seule (mastocytose cutanée) ou associée à d'autres atteintes d'organes : mastocytose systémique (MS). Parfois les lésions cutanées

Tableau 1 – Classification OMS des mastocytoses (d'après OMS 2008) ¹

Classification des Mastocytoses
Mastocytose cutanée (CM)
Lésions cutanées montrant des aspects typiques (non décrite ici)
Urticaire pigmentaire/mastocytose maculopapulaire
Mastocytose cutanée diffuse
Mastocytome solitaire
Mastocytose systémique (SM)
1. Mastocytose systémique indolente (ISM)
Absence de C-findings
Absence d'association à des pathologies hématologiques clonales non mastocytaires
Généralement masse tumorale peu importante et les lésions cutanées presque toujours présentes
2. Mastocytose Associée à une hémopathie non mastocytaire (SM-AHNMD)
Critères de SM
Néoplasie myéloproliférative, Syndrome myélodysplasique, LAM, Lymphome...
3. Mastocytose Agressive (ASM)
MS associée à 1 ou plusieurs C-findings
Absence habituelle de lésions cutanées
Association possible à des lésions ganglionnaires avec éosinophilie sanguine, hépatosplénomégalie (mastocytose lymphadénopathique avec éosinophilie)
4. Leucémie à mastocytes (MCL)
Absence habituelle de lésions cutanées
Histologie médullaire: Infiltration diffuse de la moelle par des mastocytes atypiques immatures avec sur l'aspiration médullaire 20 % ou plus de mastocytes
Cytologie médullaire: mastocytes représentent > 20 % des cellules médullaires
Variant leucémique: mastocytes > 10 % des leucocytes circulants
Variant aleucémique: mastocytes < 10 % des leucocytes circulants
5. Sarcome mastocytaire (MCS)
Tumeur mastocytaire focale sans critères de SM
Histologie: Infiltration non destructrice
Cytologie de haut grade (mastocytes anormaux très dystrophiques)
6. Mastocytome extracutané
Tumeur mastocytaire focale sans critère de SM
Histologie: Infiltration non destructrice
Cytologie de bas grade
« C » Findings
1. dysfonction médullaire se manifestant par 1 ou plus cytopénie, mais sans évidente maladie hématologique non mastocytaire
2. Hépatomégalie palpable avec dysfonction hépatique ascite ou HTP
3. Atteinte squelettique avec lésions ostéolytiques et/ou fractures pathologiques
4. Splénomégalie palpable avec hypersplénisme
5. Malabsorption avec perte de poids due à un envahissement du tube digestif par un infiltrat mastocytaire
(SM) systemic mastocytosis; (CM) Cutaneous mastocytosis; (ISM) Indolent systemic mastocytosis; (SM-AHNMD) Systemic Mastocytosis with associated clonal haematological non-mast cell lineage disease; (MCL) Mast cell leukaemia; (MCS) Mast cell sarcoma

ne sont pas visibles dans la MS et seules les autres localisations sont présentes (moelle osseuse mais aussi rate, ganglion, tube digestif, SNC...) notamment dans les formes non-indolentes.

Les signes cliniques des mastocytoses sont liés d'une part à la libération des médiateurs mastocytaires (syndrome de dégranulation) et/ou à l'infiltration de différents organes (syndrome tumoral). On se limitera ici à l'atteinte des organes hématologiques; dans ce cas il peut s'agir d'adénopathies, d'une splénomégalie, de cytopénies, d'une éosinophilie ou de signes d'hémopathies non mastocytaires. Le diagnostic des mastocytoses repose sur différents critères parmi lesquels la présentation clinique, l'aspect cytotologique et histologique, les données de biologie moléculaire permettant d'identifier la clonalité de l'hématopoïèse, et le phénotype des mastocytes (**tableau 2**) [1].

4. Caractéristiques cytologiques et immunologiques des mastocytoses

4.1. Aspects cytologiques (figure 1)

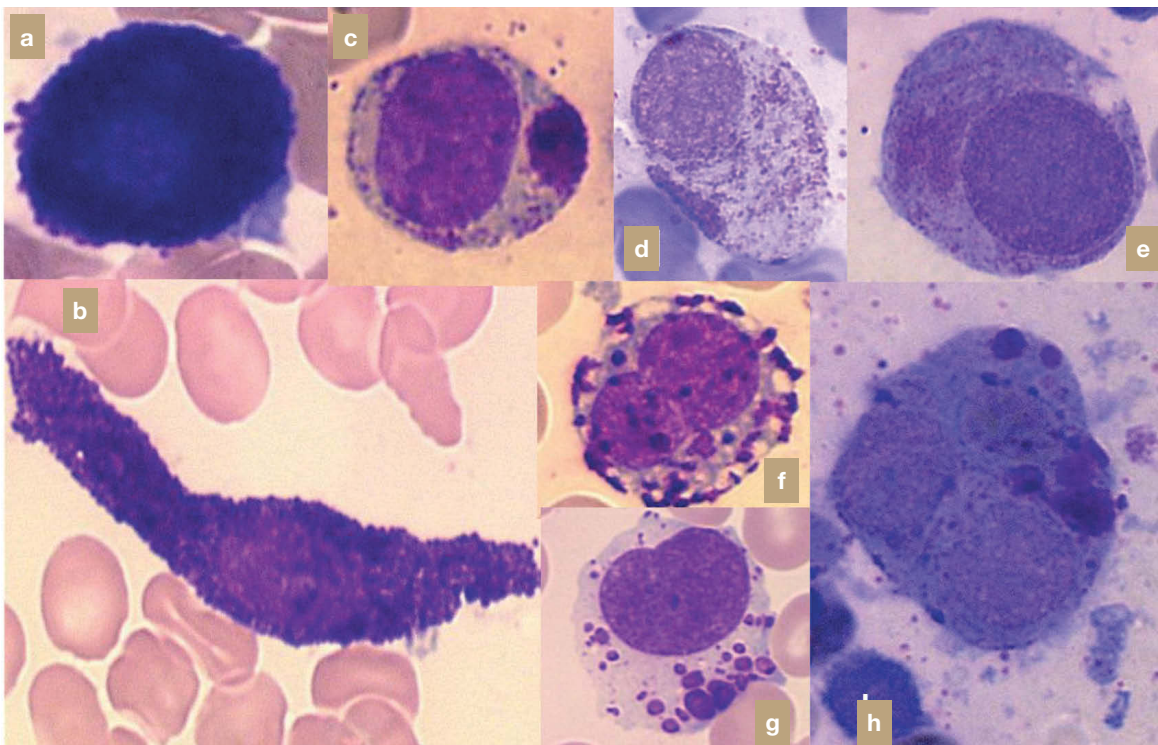
Le mastocyte normal est une cellule ronde de 20 à 35 µm hautement granuleuse avec des granules très basophiles au point que le cytoplasme éosinophile et le noyau en sont

Tableau 2 – Critères diagnostiques OMS des mastocytoses (d'après OMS 2008) 1

Critère majeur
Infiltrat dense multifocal de mastocytes (> ou = 15 mastocytes)
Critère mineur
1. plus de 25 % de cellules fusiformes dans les sections de moelle ou d'organes extra-cutanés atteints ou plus de 25 % de mastocytes atypiques de l'ensemble des mastocytes observés sur un étalement de moelle.
2. mutation du codon 816 du c- <i>KIT</i> dans la moelle ou les autres organes extra-cutanés analysés
3. Détection de mastocytes KIT + exprimant CD2 et/ou CD25
4. Tryptase sérique contrôlée > 20 ng/ml en dehors d'une autre hémopathie associée
Le diagnostic est retenu si un critère majeur et un critère mineur ou trois critères mineurs sont présents

totallement recouverts. Bien que de petite taille et élément médullaire très minoritaire, on le repère en cytologie au faible grossissement par sa forte chromophilie. Certaines pathologies s'accompagnent d'une hyperplasie mastocytaire sans anomalie morphologique (Waldenström, LLC...) tandis que dans les mastocytoses, le mastocyte présente généralement des signes distinctifs de dysmorphie.⁷ Le plus commun est représenté par le mastocyte fusiforme au cytoplasme allongé en aiguille (*spindle-shaped mast cell* dans la terminologie anglo-saxonne) qui lorsqu'il est retrouvé de manière récurrente sur le frottis (> 25 % des mastocytes)

Figure 1 – Aspects cytologiques du mastocyte normal et pathologique.



(a) mastocyte normal de forme arrondie, avec granulations couvrant le noyau. (b) forme typique de mastocyte fusiforme (*spindle-shaped mast cell*) avec cytoplasme allongé et extensions cytoplasmiques effilées en aiguille, retrouvé principalement dans les mastocytoses indolentes (> 25 % des mastocytes) mais aussi agressives. (c-e) mastocytes dégranulés avec plages lacunaires cytoplasmiques étendues et parfois tendance à la compaction polaire des granules (c). (f-h) Granules coalescentes formant de gros amas compacts dispersés dans le cytoplasme, avec parfois multinucléarité et image d'érythrophagocytose (h).

est pathognomonique du caractère pathologique. D'autres atypies cellulaires moins fréquentes peuvent être retrouvées, et sont l'apanage des formes agressives. Des promastocytes, mastocytes métachromatiques ou encore des mastocytes hypogranuleux découvrant le noyau rappellent les formes immatures du développement mastocytaire. Des aberrations morphologiques spécifiques cytoplasmiques ou nucléaires peuvent également présentes : plages hypo-/a-granulaires focales (aires cytoplasmiques lacunaires), compactions granulaires, granules coalescentes polaires, nucléole proéminent, chromatine différenciée lâche voire pseudo-blastique, noyau bi/multilobé. La cytologie procure un argument fort pour la nature pathologique de la prolifération/accumulation mastocytaire (critère mineur) mais n'est pas suffisante au diagnostic. Elle doit nécessairement être complétée par les explorations *ad hoc* permettant de remplir les critères (mineurs & majeurs) du diagnostic. Cependant, l'analyse cytologique est d'un apport diagnostique très précieux dans deux situations : i) lorsque la population mastocytaire représente > 20 % des éléments médullaires avec signes de dysmorphie, la cytologie est alors suffisante au diagnostic de MCL [8] ; ii) lorsque le pool mastocytaire est < 20 %, la cytologie permet la quantification du pool des polynucléaires éosinophiles et l'évaluation des autres lignées hématopoïétiques, pour identifier une éventuelle hémopathie non-mastocytaire synchrone classant la mastocytose dans le cadre nosologique des SM-AHNMD (**tableau 1**) [1].

4.2. Aspects immunologiques

Les formes systémiques peuvent bénéficier d'une évaluation immunophénotypique de la moelle ou de tout tissu tumoral pouvant être mis en suspension. Les formes cutanées pures échappent à cette évaluation, de même que le sang hors contexte de MCL puisque le mastocyte est une cellule purement tissulaire non-circulante. L'expression du CD2 et/ou du CD25 à la surface du mastocyte est classiquement un critère mineur du diagnostic [1]. Cette caractéristique présente dans près de 80 % des mastocytoses systémiques de l'adulte n'est cependant pas universelle. Si les formes indolentes présentent une infiltration médullaire mastocytaire à bas niveau ($\sim < 10^E-3$), la plupart présente la coexpression mastocytaire de CD2 et CD25. À l'inverse, les formes agressives sont volontiers plus tumorales avec une infiltration médullaire significativement augmentée ($\sim > 10^E-3$), mais dans ce cas de figure, l'expression de CD2 et/ou CD25 peut manquer. Dans la cohorte nationale française du CERE-MAST (manuscrit en préparation), l'absence d'expression du CD2 dans les formes agressives est grevée d'un pronostic significativement plus péjoratif que les formes agressives CD2 +. Environ 7 % des mastocytoses systémiques de l'adulte n'expriment ni CD2, ni CD25, et arborent ainsi un phénotype similaire à celui du mastocyte normal ; il s'agit dans tous les cas de formes agressives sans mutation catalytique (*KIT* JM ou *Wild-type* (WT)) pour lesquelles les seules anomalies phénotypiques retrouvées peuvent être une hyperplasie mastocytaire ($\sim > 10^E-3$ des éléments médullaires), ou un phénotype mastocytaire immature (cf. *infra*). Ces formes rappellent qu'en cas de suspicion clinique de mastocytose, l'absence d'expression du CD2 et/ou CD25 associée à l'absence de détection de mutation

catalytique de *c-KIT* ne permet en aucun cas d'exclure le diagnostic de mastocytose. L'existence de mastocytoses CD2neg CD25neg *c-KIT* WT ou JM (habituellement non-recherchée dans les laboratoires de routine) motive dans cette situation un bilan complémentaire incluant obligatoirement une analyse morphologique (cytologique et histologique) contributive ainsi qu'un séquençage intégral de *c-KIT* haute sensibilité en centre expert (nested RT-PCR D-HPLC/ASO-PCR p.ex.) [5].

La réalisation pratique de l'immunophénotypage mastocytaire apparaît relativement simple et accessible car basée essentiellement sur l'analyse du CD2 et CD25. En réalité, elle est extrêmement sensible à différents paramètres pouvant conduire à de faux négatifs/positifs non contrôlés par le laboratoire diagnostique : absence de représentativité médullaire suffisante, rareté des mastocytes, auto-fluorescence importante des mastocytes, phénotypes non-conventionnels possibles, modalités d'interprétation non basée sur le pourcentage d'expression antigénique... Ce sont autant d'écueils qui recommandent de faire appel à un centre expert pour la réalisation de cette analyse au prime abord facile afin d'évaluer avec exactitude le degré d'infiltration médullaire et le caractère normal ou pathologique des mastocytes médullaires. D'autres paramètres immuno-phénotypiques émergents non pris en compte à l'heure actuelle par l'OMS [1] pourront alors être évalués tels le niveau de maturation de la population mastocytaire appréciée sur d'autres marqueurs, et une cryopréservation spécifique sera réalisée (mastocytes non conservés dans le produit de Ficoll) [9,10].

Enfin, un immunophénotypage médullaire bien conduit avec une forte sensibilité contribue au diagnostic d'une entité particulière, le SAMa (syndrome d'activation mastocytaire) qui se caractérise par des stigmates cliniques de dégranulation mastocytaire sans syndrome tumoral tissulaire. On distingue les SAMa clonaux et non clonaux en fonction de l'identification d'anomalies moléculaires [11].

5. Étude anatomo-pathologique des organes hématopoïétiques dans les mastocytoses

5.1. Aspect histologique de la Biopsie Médullaire (BM) dans les MS [1,12-14]

5.1.1. Dans la forme caractéristique de MS sans AHNMD (**figure 2**)

Le diagnostic histologique sur BM dans la forme caractéristique de MS est assez facile en montrant plusieurs agrégats denses de mastocytes en topographie paratrabéculaire ou péri-vasculaire dans la moelle osseuse déjà identifiables sur la coloration standard par l'HES, mais mieux visualisés sur le Giemsa ou le Bleu de Toluidine qui révèle leurs granulations métachromatiques. Ces agrégats sont constitués de plus de 15 mastocytes fusiformes ou plus ovoïdes/champ à fort grandissement, souvent hypogranulaires. L'immunomarquage est indispensable pour confirmer la nature mastocytaire des cellules avec la tryptase qui est le marqueur le plus sensible [15,16] ou le CD117

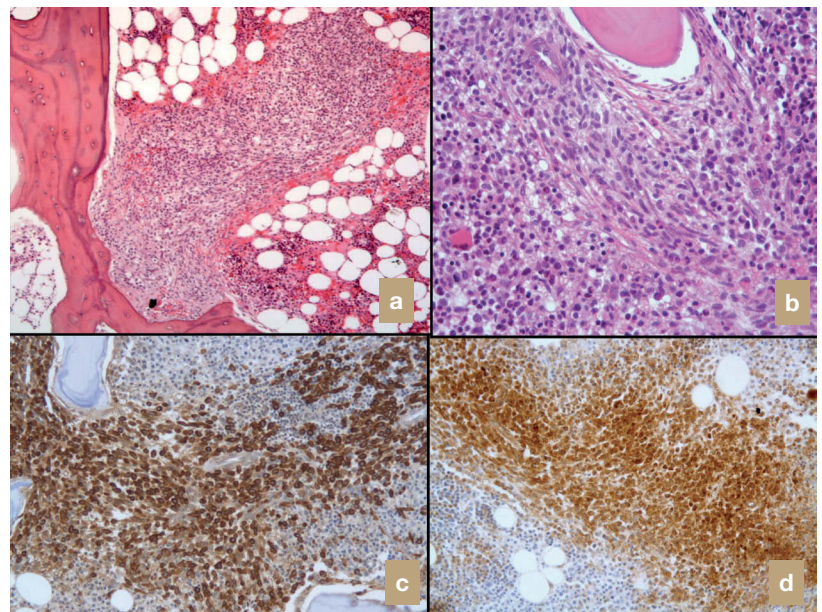
(c-KIT) en sachant que ni la tryptase, ni le c-KIT ne permettent de différencier mastocytes normaux et pathologiques et que d'autres cellules peuvent être marquées par ces 2 anticorps (blastes de LAM p.ex.) [2, 16, 17]. En revanche, le marquage aberrant des MC par le CD25 sur les BM est un bon marqueur qui aide à différencier les MC anormaux dans tous les sous-types de MS [18]. Le CD2 souvent décrit comme très utile sur les myélogrammes pour détecter des MC pathologiques [19], est d'interprétation beaucoup plus difficile et beaucoup moins fiable sur BM où la décalcification gêne souvent son interprétation. Le CD30 a aussi été rapporté comme étant préférentiellement exprimé sur les MC des MS agressives ou les MCL (85 %) comparé aux formes indolentes (27 %) [20,21]. Il est souvent associé à un taux de tryptase plus élevé (≥ 50 ng/ml) [16]. Le CD25 apparaît donc comme le marqueur le plus fiable des MC pathologiques, même s'il peut être négatif quand la mutation n'est pas la D816V (cf. *supra*) [16, 18].

Les agrégats mastocytaires peuvent s'associer à un infiltrat lymphoïde de petites cellules intriqué aux mastocytes, qui quand il est abondant, peut en imposer pour une localisation de lymphome B à petites cellules associée et doit faire pratiquer des techniques d'immunomarquage voire de biologie moléculaire. Les lignées myéloïdes associées à l'infiltrat mastocytaire dans les MS non associées à des AHNMD, peuvent être d'abondance normale, hypoplasiques ou plus souvent hyperplasiques sans anomalies de maturation ou dystrophies notables [1,2,16]. Les éosinophiles peuvent être augmentés en nombre et parfois très nombreux dans ou autour des agrégats mastocytaires ou à distance au sein des lignées myéloïdes. Quand les éosinophiles sont nombreux et s'associent à une éosinophilie sanguine un réarrangement FIP1L1-PDGFR α doit être recherché par FISH ou RT-PCR [16,22]. La coloration de la réticuline révèle le plus souvent une fibrose réticulinique parfois marquée et plus rarement collagénique au sein des foyers mastocytaires. Les travées osseuses dans les BM de MS sans AHNMD peuvent être normales, amincies, ou au contraire épaissies et de forme irrégulière.

5.1.2. Formes histologiques plus atypiques d'envahissement médullaire dans les MS sans AHNMD (figures 3, 4, 5)

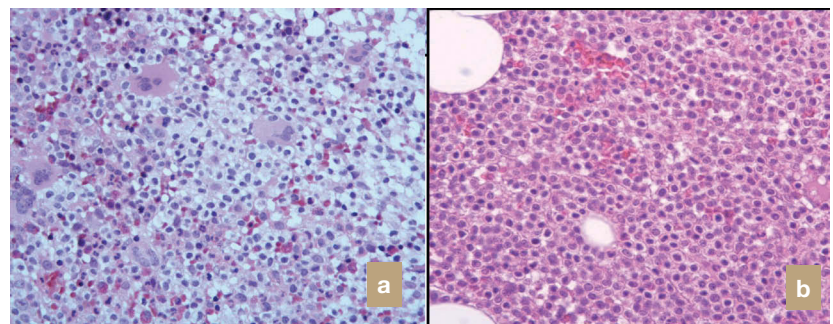
Dans certaines BM de MS, il n'y a pas d'agrégats mastocytaires et l'infiltration est interstitielle ou en plages avec des mastocytes lâchement distribués au sein des lignées myéloïdes [1,2,16]. Dans ce cas, le nombre de MC doit être supérieur à 25 % des cellules myéloïdes, et les MC doivent avoir des anomalies

Figure 2 – Aspect histologique « classique » d'une localisation médullaire de MS.



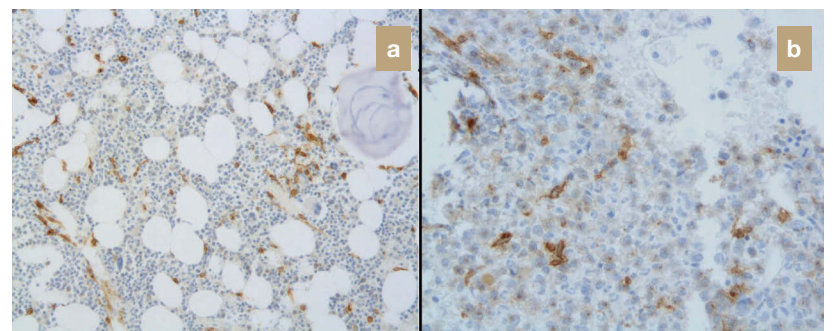
- (a) agrégat mastocytaire paratrabéculaire (HES, Gx100)
 (b) aspect cytotologique des mastocytes à fort grandissement avec des aspects fusiformes ou plus arrondis (HES, Gx400)
 (c) immunomarquage des mastocytes par l'anticorps anti-Tryptase (Gx200)
 (d) marquage des mastocytes par l'anticorps anti-CD25 (Gx200).

Figure 3 – Aspects histologiques plus atypiques d'une localisation médullaire de MS.



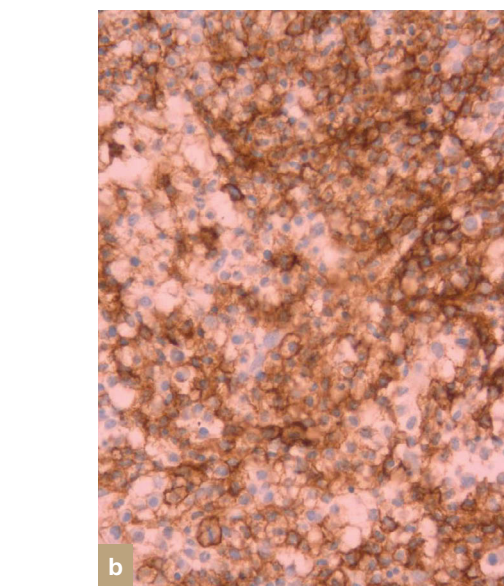
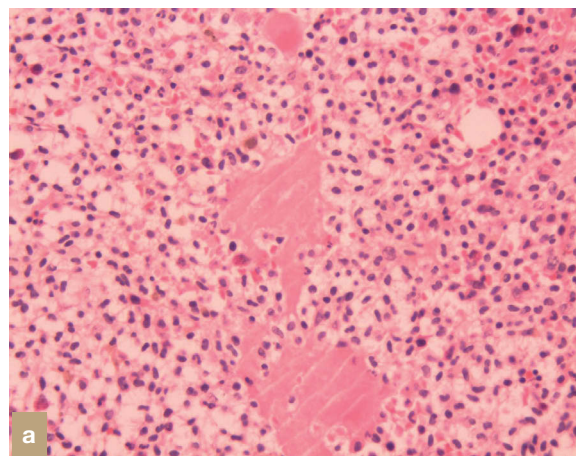
- (a) infiltration mastocytaire lâche entre les lignées myéloïdes (HES, Gx400)
 (b) infiltration mastocytaire massive d'une leucémie à mastocytes (HES, Gx400).

Figure 4 – Aspects histologiques plus atypiques d'une localisation médullaire de MS : infiltration médullaire mastocytaire discrète.



- (a) immunomarquage par le c-KIT (CD117) révélant des mastocytes assez peu nombreux et sans agrégats (Gx200)
 (b) ces mastocytes dispersés sont marqués par le CD25 (Gx400).

Figure 5 – Expression du CD30 dans une localisation médullaire de MS.

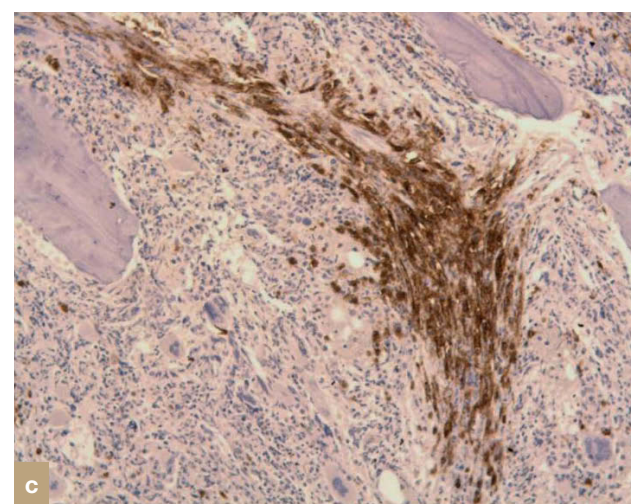
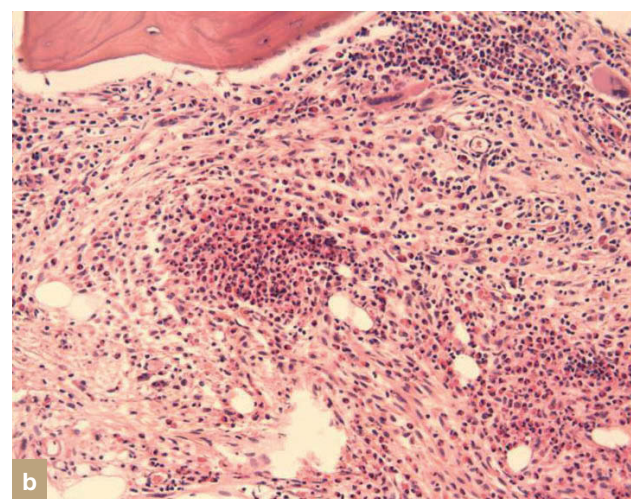
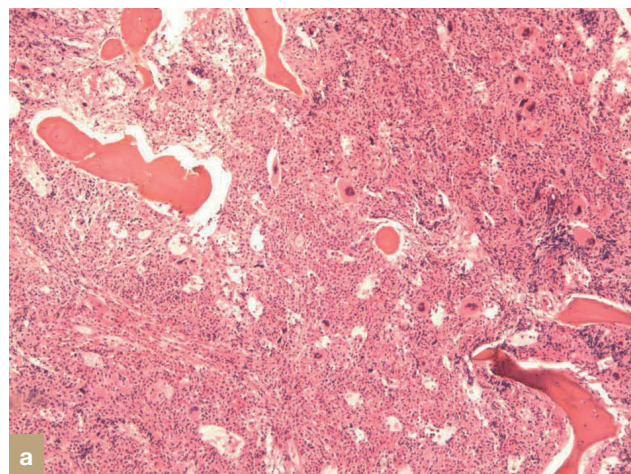


- (a) infiltration médullaire importante par des mastocytes dystrophiques (HES, Gx400)
(b) marquage de ces mastocytes par le CD30 (Gx 400)

cytologiques et co-exprimer la tryptase et le CD25 [1,2]. Cet aspect est présent dans 20 % des MS indolentes qui peuvent aussi avoir un taux de tryptase sérique inférieur à 20 ng/ml.

Dans d'autres cas, l'infiltration mastocytaire est faible mais supérieure à 5 % des cellules myéloïdes avec des MC interstitiels et atypiques qui expriment CD25 sur les BM et le CD25 et/ou CD2 sur le myélogramme ce qui représente une aide au diagnostic ainsi que la détection de la mutation KIT816V [23]. De rares cas ont été décrits avec un phénotype dit « bien différencié » c'est-à-dire une BM montrant un nombre de mastocytes discrètement augmenté avec peu d'anomalies cytologiques, pas ou peu de marqueurs aberrants de type CD25 ou CD2 mais parfois l'expression du CD30 et une mutation de KIT détectée dans seulement 30 % des cas (qu'elle soit D816V ou K509 ou I817V) [24].

Figure 6 – Infiltration médullaire dans un SM-AHNMD.



- (a) aspect histologique médullaire de néoplasie myéloproliférative (HES, Gx100)
(b) à plus fort grossissement présence d'un agrégat mastocytaire (HES) (Gx200)
(c) confirmation de la nature mastocytaire de l'agrégat cellulaire sur la marquage par le c-KIT (x200).

Ces patients ont le plus souvent une mastocytose cutanée débutant dans l'enfance (91 %) et fréquemment une forme familiale (39 %). Ceci justifie que l'aspect histologique de l'infiltration mastocytaire médullaire doit toujours être confronté au taux de la tryptase sérique (> 20 ng/ml) et si possible à la mutation présentée par le patient.

À l'inverse, l'infiltration mastocytaire dans la BM peut être massive. Ces aspects sont associés à une forme agressive de mastocytose où l'infiltrat MC est > 30 % et peut s'agencer en agrégats ou en plages diffuses de MC souvent dystrophiques et parfois s'associer à une leucémie mastocytaire (cf. *infra*) [25].

Le tissu myéloïde à distance de l'infiltrat mastocytaire est important à analyser car il peut montrer tantôt une richesse cellulaire normale et l'absence d'anomalies myéloïdes (qui se voit en particulier dans les ISM), tantôt une moelle riche qui peut correspondre à une hyperplasie réactionnelle des lignées myéloïdes ou bien à des anomalies entrant dans le cadre des SM-AHNMD. Les moelles riches avec des anomalies myéloïdes peuvent être associées à un plus mauvais pronostic et se voient davantage dans les ASM [14,16].

5.1.3. Histologie des MS associées à une AHNMD (SM-AHNMD) (figure 6)

Les SM-AHNMD représentent 25 à 30 % des MS (OMS 2008). Elles associent une infiltration mastocytaire plus ou moins caractéristique à une infiltration par l'AHNMD [1,26-28].

Il s'agit le plus souvent d'une AHNMD myéloïde (80 à 90 % des cas) de type LAM [29], néoplasie myéloproliférative (NMP) (45 %) (en particulier une LMMC ou plus rarement un autre SMP (MF primitive, thrombocythémie essentielle) et syndrome myélodysplasique (23 %) [16,30]. Ces AHNMD sont beaucoup plus facilement typables avec l'aide précieuse de la cytologie sur myélogramme ou de la biologie moléculaire réalisées à partir des prélèvements sanguins ou médullaires que sur BM seule.

On doit se rappeler que les marqueurs mastocytaires peuvent être aussi exprimés sur les blastes des LAM ou associés à des SMP/SMD et que l'interprétation de ces marqueurs doit donc être prudente quant au contingent de mastocytes associé à l'AHNMD.

Plus rarement il s'agit d'AHNMD non myéloïdes [31,32] parmi lesquelles on peut observer des lymphomes B indolents (5 % des cas) de type lymphome lymphoplasmocytaire, lymphome lymphocytaire/LLC ou leucémie à tricholeucocytes ou des dysglobulinémies monoclonales voire des myélomes [31]. Très rarement d'autres lymphomes ont été rapportés associés à des MS (lymphome de Hodgkin ou lymphome T).

Attention :

On rappelle qu'un nombre augmenté de MC dans une BM n'est pas obligatoirement le signe pathognomonique d'une MS. Il peut exister une hyperplasie mastocytaire dans les certains lymphomes en particulier dans les lymphomes B de type lymphoplasmocytaire qui s'accompagnent aussi d'une gammopathie monoclonale. Leur nombre (peu élevé), leur morphologie (plutôt ovoïde) et leur distribution (dispersés au sein des lignées myéloïdes) ainsi que l'absence d'expression de marqueurs aberrants comme le CD25 p.ex. représentent une aide au diagnostic différentiel avec une MS associés à la recherche du taux de tryptase [25].

5.1.4. Histologie de la leucémie mastocytaire (MCL)

La leucémie à mastocytes est une forme rare (1 %) et très agressive de MS (survie moyenne de 2 mois) en particulier chez les sujets âgés [1,8]. Le diagnostic est habituellement cytologique ; lorsque la BOM est réalisée on observe une infiltration médullaire diffuse et massive par des mastocytes qui effacent la quasi-totalité des lignées myéloïdes. Ces mastocytes peuvent avoir des atypies plus ou moins marquées avec des noyaux irréguliers ou des aspects « monocytoïdes » hypogranulaires. Ils expriment le CD117, la tryptase et généralement le CD25. Ce dernier marqueur peut être négatif si la mutation présentée par le patient n'est pas la classique D816V [16,25].

5.2. Aspect histologique des ganglions envahis dans la MS (figures 7, 8)

C'est une éventualité rare et des adénopathies ne sont pas souvent observées dans les mastocytoses. Cependant la localisation ganglionnaire de MS existe et ne doit pas être confondue avec un lymphome d'autant que les ganglions atteints sont parfois volumineux. Il est donc impératif de biopsier les ganglions qui apparaissent dans une MS.

Figure 7 – Infiltration mastocytaire ganglionnaire dense par des agrégats mastocytaires (HES, Gx400).

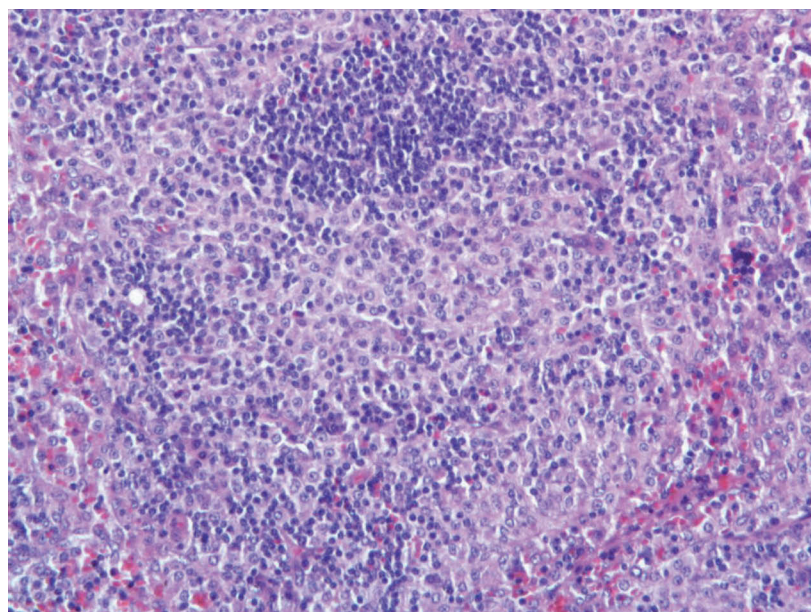
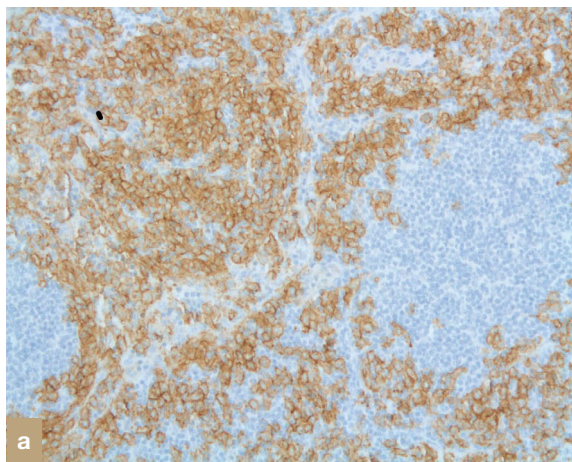
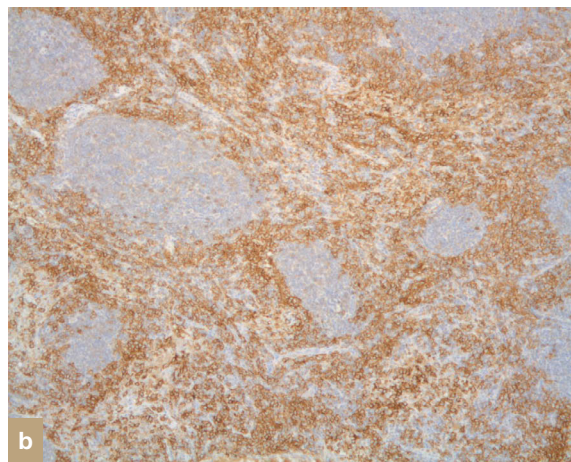


Figure 8 – Immunomarquage d'une localisation ganglionnaire de MS.



(a) marquage par le c-*KIT* des mastocytes ganglionnaires (G x200)



(b) marquage de ces mastocytes par le CD25 (Gx100).

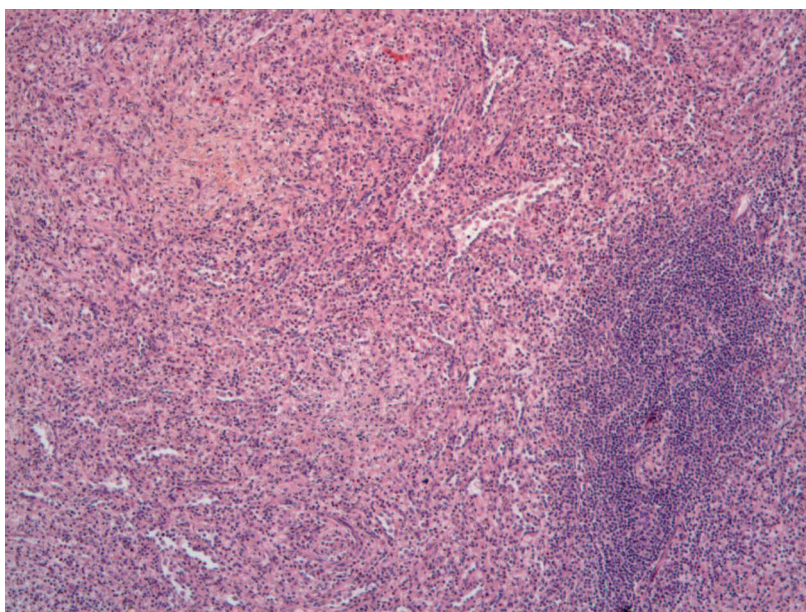
En histologie, l'infiltration mastocytaire ganglionnaire se fait essentiellement dans les zones T en paracortical et peut être focale ou diffuse mais n'efface que rarement la totalité de l'architecture ganglionnaire normale [16,33]. Elle peut s'accompagner d'éosinophiles parfois nombreux ou de plasmocytes et d'une angiogénèse. Quand les mastocytes sont ovoïdes le diagnostic peut ne pas être évoqué immédiatement et là encore l'immunomarquage par le CD117 et la tryptase sont importants à faire dans les ganglions des patients ayant une MS. L'atteinte ganglionnaire est généralement présente dans les ASM.

5.3. Aspect histologique de la rate envahie dans les MS (figures 9, 10)

La rate est rarement infiltrée dans les MS et dans ce cas il s'agit de formes plus agressives de MS. La pulpe rouge et la pulpe blanche peuvent être indifféremment concernées par cet envahissement mastocytaire. L'infiltrat mastocytaire peut être en foyers près des follicules ou dans les follicules de la pulpe blanche ou plus diffusément distribué dans la pulpe rouge. Il peut s'accompagner de nombreux éosinophiles ou d'une fibrose plus ou moins marquée [33].

Ce diagnostic peut être confondu avec une localisation lymphomateuse et un immunomarquage par le CD117 et la tryptase est fortement recommandé dans les rates de MS ainsi que dans les rates prélevées dans un contexte d'hépto-splénomégalie sans diagnostic connu de mastocytose quand le diagnostic n'apparaît évident.

Figure 9 – Localisation mastocytaire dans la rate (HES, Gx200).

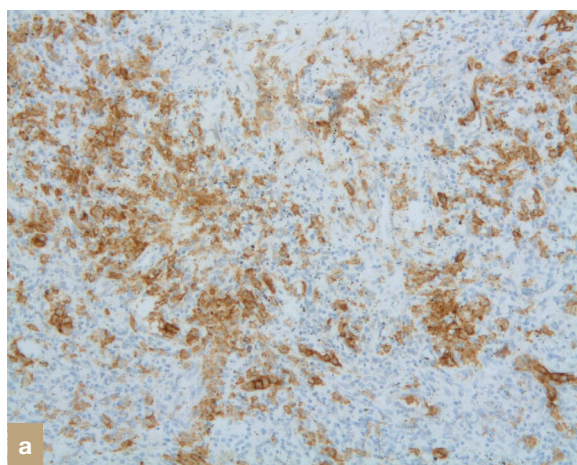


5.4. Aspect histologique des sarcomes mastocytaires

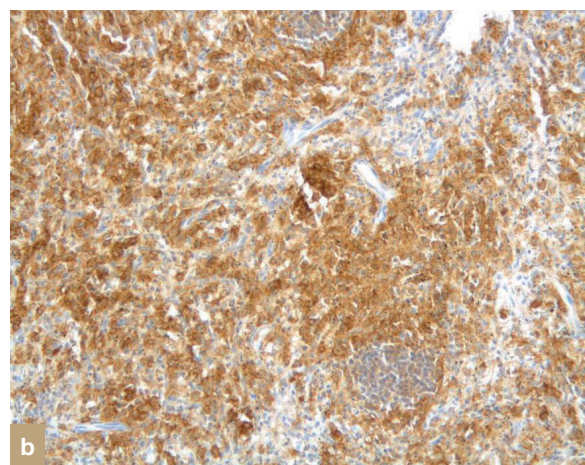
(figures 11, 12)

Les sarcomes mastocytaires représentent un sous-type très rare de mastocytoses (0.1 %) et de pronostic très défavorable (médiane de survie < 1 an) [34,35]. Ils sont constitués d'une prolifération mastocytaire tumorale localisée et destructrice mimant un sarcome de siège ubiquitaire (peau, les ganglions, la rate, l'os, larynx, le tube digestif...). Ils sont accompagnés d'une anémie, d'une thrombopénie, voire une pancytopénie et d'une tryptase habituellement très augmentée. La majorité des sarcomes mastocytaires sont primitifs (> 90 %) mais certains sont

Figure 10 – Immunomarquage de la localisation splénique de MS.



a



b

- (a) marquage des mastocytes spléniques par le c-KIT (G x200)
(b) marquage de ces mastocytes par le CD25 (Gx200).

Figure 11 – Aspect histologique des mastocytes très dystrophiques avec cellules multinucléées dans un sarcome mastocytaire (HES, G x400).

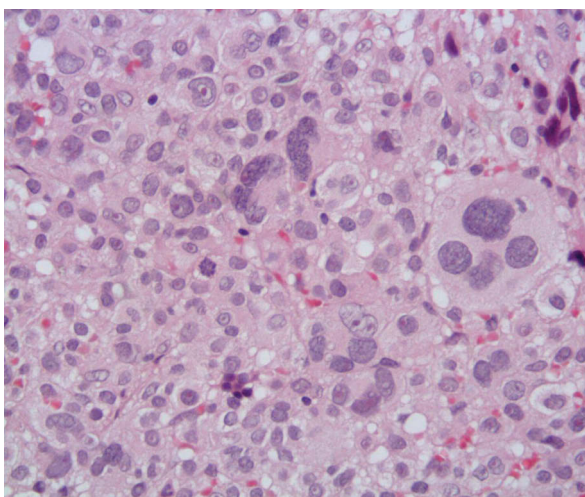
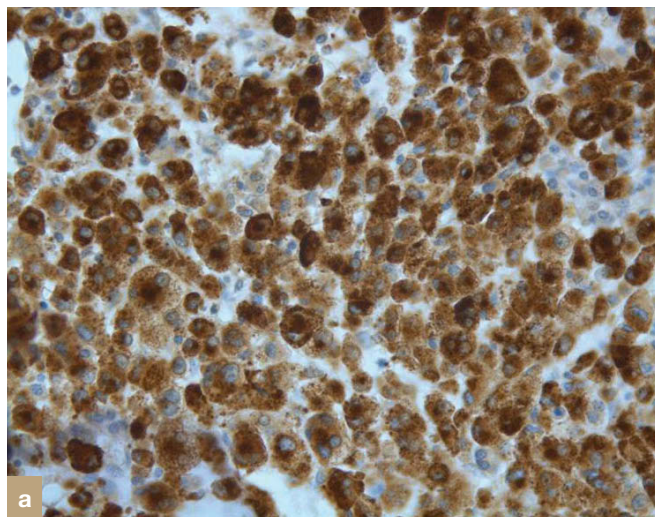
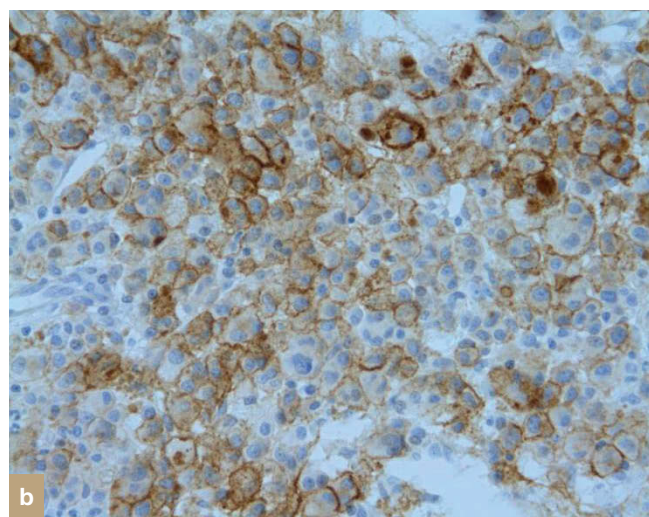


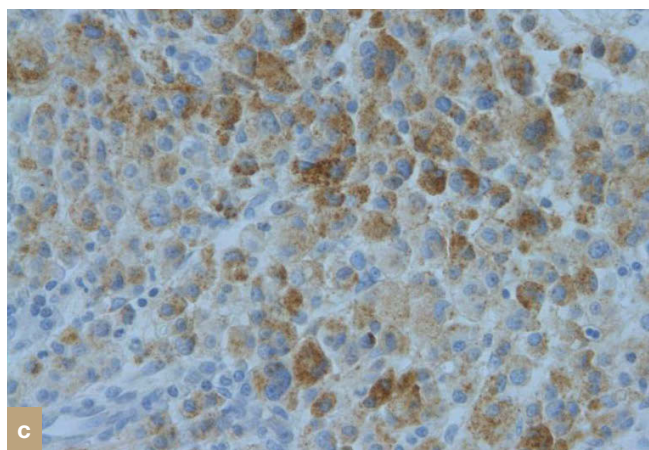
Figure 12 – Immunomarquage d'un sarcome mastocytaire (Gx400).



a



b



c

- (a) marquage par la tryptase des mastocytes très dystrophiques
(b) marquage des mastocytes dystrophiques par le CD30
(c) marquage irrégulier des mastocytes dystrophiques par le CD25.

est aussi inhabituelle avec des mastocytes souvent atypiques au gros noyau vésiculeux nucléolé et au cytoplasme abondant et éosinophile. Les mastocytes atypiques des sarcomes mastocytaires peuvent être CD117 négatif ou d'expression faible mais sont tryptase + et le plus souvent CD25 + avec cependant 25 % des cas où ils sont négatifs pour CD25 et 48 % de cas où ils n'expriment pas CD2. Ils sont fréquemment marqués pour CD30 et Ki67 et peuvent exprimer la p53 ou avoir un marqueur d'immaturité comme le CD34.

Dans certains cas les mastocytes des sarcomes mastocytaires sont volumineux, plurinucléés et peuvent en imposer pour des cellules carcinomateuses ou celles d'un lymphome (anaplasique à grandes cellules en particulier, d'autant que CD30 est positif sur ces MC anormaux). Il est donc important de réaliser un marquage systématique par les anticorps CD117 et tryptase dans les tumeurs dont le diagnostic n'apparaît évident en histologie [36].

Au total, les localisations des mastocytoses dans les organes hématopoïétiques se voient surtout fréquemment dans la moelle osseuse mais peuvent aussi s'observer dans la rate ou les ganglions où leur diagnostic peut être plus difficile si cette hypothèse n'a pas été évoquée et qu'une pathologie lymphomateuse est suspectée. Les mastocytoses peuvent être isolées ou associées à une autre hémopathie, non mastocytaire (AHNMD) et dans ce dernier cas l'aide de la cytologie est très utile pour typer précisément cette AHNMD surtout quand elle est myéloïde. L'immunomarquage par le CD117, la tryptase et le CD25 doivent toujours être effectués sur les organes hématopoïétiques dans un contexte de MS et en particulier quand le diagnostic n'est pas évident sur l'organe biopsié en sachant que le marqueur le plus fiable de mastocytes anormaux est le CD25. Il doit être complété par un dosage de la tryptase sérique et la recherche de mutation.

5.4.1. Place du myélogramme et de la BOM dans le diagnostic des mastocytoses

La BOM est un élément majeur du diagnostic des mastocytoses. Sa réalisation en pratique peut cependant poser des difficultés en raison de son caractère invasif, surtout pour le suivi du patient (biopsies itératives), ou encore de contre-indications relatives. Elle doit aussi pour être informative

compter au moins 5 à 10 espaces médullaires. Dans certaines circonstances, le myélogramme combiné à une analyse cytométrique peut être suffisant au diagnostic et épargner la BOM. De manière générale, les formes cutanées ou systémiques indolentes peuvent ne pas requérir la BOM en l'absence d'anomalies de l'hémogramme, de maladie associée, de critères d'agressivité, et de doute diagnostique sur les éléments cellulaires. L'analyse tissulaire reste toutefois indispensable dans tous les autres cas et *a fortiori* dans les formes agressives. Un myélogramme simple avec immunophénotypage contributif est aussi suffisant pour le bilan médullaire des SAMA qui par définition ne présentent pas de syndrome tumoral. Dans cette situation, l'immunophénotypage est même plus indiqué que la BOM car il permet d'écarter un syndrome tumoral avec une forte sensibilité (10E-4) tout en étant très peu invasif.

6. Conclusion

Les mastocytoses correspondent à un groupe nosologique extrêmement hétérogène sur le plan clinique et biologique. Les formes pédiatriques sont individualisées car de diagnostic relativement aisé et d'évolution unique puisque la plupart du temps spontanément résolutive au moment de la puberté. Les formes adultes sont de diagnostic moins évident reposant sur un faisceau d'arguments codifié dans les critères mineurs et majeurs et sont toujours chroniques, indolentes ou agressives, pouvant même engager le pronostic vital à court terme. L'identification récente de variants moléculaires de *c-KIT*, d'autres anomalies moléculaires associées (TET2, ASXL1...), de nouvelles pistes de thérapies ciblées, de facteurs pronostiques rendent la prise en charge diagnostique et thérapeutique d'autant plus complexe. La rareté de cette maladie et la diversité des entités nosologiques ainsi identifiées requièrent une expertise importante. Dans ce cadre, il est essentiel que les acteurs du diagnostic soient sensibilisés aux différentes présentations clinico-biologiques et bénéficient d'un accès aisé à un centre référent d'expertise dans cette pathologie afin de réévaluer le contexte, poser un diagnostic de certitude et proposer une prise en charge adaptée au patient atteint de mastocytose.

Déclaration d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts en relation avec cet article.

Glossaire des abréviations

AHNMD : hémopathie clonale non mastocytaire (Associated Haematopoietic non mast-cell disorder)	MC : Mastocyte (Mas Cell)
ASM : Mastocytose agressive (Aggressive systemic mastocytosis)	MCL : Leucémie à mastocytes (Mast cell leukemia)
BM : Biopsie ostéo-médullaire	MCS : Sarcome Mastocytaire (Mast Cell Sarcoma)
CEREMAST : CEntre de REfÉrence des MASTocytoses	MF : Myélofibrose
HTP : Hypertension portale	MS ou SM : Mastocytose systémique (Systemic mastocytosis)
ISM : Mastocytose indolente (Indolent systemic mastocytosis)	NMP : Néoplasie Myélo-proliférative
JM : juxta-membranaire	OMS : Organisation Mondiale de la Santé
	WT : Wild-type

Références

- [1] Horny HP MD, Bennett JM, et al. Mastocytosis. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL. OMS Classification of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: International Agency for Research and Cancer (IARC); 2008:54-63.
- [2] Valent P, Horny HP, Escribano L, et al. Diagnostic criteria and classification of mastocytosis: a consensus proposal. *Leuk Res* 2001; 25 (7): 603-25.
- [3] Orfao A, Garcia-Montero AC, Sanchez L, Escribano L. Recent advances in the understanding of mastocytosis: the role of KIT mutations. *Br J Haematol* 2007; 138 (1): 12-30.
- [4] Bodemer C, Hermine O, Palmerini F, et al. Pediatric mastocytosis is a clonal disease associated with D816V and other activating c-KIT mutations. *J Invest Dermatol* 2010; 130 (3): 804-15.
- [5] Arock M, Sotlar K, Akin C, et al. KIT mutation analysis in mast cell neoplasms: recommendations of the European Competence Network on Mastocytosis. *Leukemia* 2015; 29 (6): 1223-32.
- [6] Bibi S, Langenfeld F, Jeanningros S, et al. Molecular defects in mastocytosis: KIT and beyond KIT. *Immunol Allergy Clin North Am* 2014; 34 (2): 239-62.
- [7] Sperr WR, Escribano L, Jordan JH, et al. Morphologic properties of neoplastic mast cells: delineation of stages of maturation and implication for cytological grading of mastocytosis. *Leuk Res* 2001; 25 (7): 529-36.
- [8] Georgin-Lavialle S, Lhermitte L, Dubreuil P, Chandesris MO, Hermine O, Damaj G. Mast cell leukemia. *Blood* 2013; 121 (8): 1285-95.
- [9] Escribano L, Alvarez-Twose I, Sanchez-Munoz L, et al. Prognosis in adult indolent systemic mastocytosis: a long-term study of the Spanish Network on Mastocytosis in a series of 145 patients. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124 (3): 514-21.
- [10] Teodosio C, Garcia-Montero AC, Jara-Acevedo M, et al. Mast cells from different molecular and prognostic subtypes of systemic mastocytosis display distinct immunophenotypes. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125 (3): 719-26, 26 e1-26 e4.
- [11] Valent P. Mast cell activation syndromes: definition and classification. *Allergy* 2013; 68 (4): 417-24.
- [12] Horny HP, Parwaresch MR, Lennert K. Bone marrow findings in systemic mastocytosis. *Hum Pathol* 1985; 16 (8): 808-14.
- [13] Horny HP, Valent P. Histopathological and immunohistochemical aspects of mastocytosis. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 127 (2): 115-7.
- [14] Stevens EC, Rosenthal NS. Bone marrow mast cell morphologic features and hematopoietic dyspoiesis in systemic mast cell disease. *Am J Clin Pathol* 2001; 116 (2): 177-82.
- [15] Horny HP, Sillaber C, Menke D, et al. Diagnostic value of immunostaining for tryptase in patients with mastocytosis. *Am J Surg Pathol* 1998; 22 (9): 1132-40.
- [16] Pardanani A. Systemic mastocytosis in adults: 2015 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol* 2015; 90 (3): 250-62.
- [17] Lim KH, Tefferi A, Lasho TL, et al. Systemic mastocytosis in 342 consecutive adults: survival studies and prognostic factors. *Blood* 2009; 113 (23): 5727-36.
- [18] Sotlar K, Horny HP, Simonitsch I, et al. CD25 indicates the neoplastic phenotype of mast cells: a novel immunohistochemical marker for the diagnosis of systemic mastocytosis (SM) in routinely processed bone marrow biopsy specimens. *Am J Surg Pathol* 2004; 28 (10): 1319-25.
- [19] Jordan JH, Walchshofer S, Jurecka W, et al. Immunohistochemical properties of bone marrow mast cells in systemic mastocytosis: evidence for expression of CD2, CD117/KIT, and bcl-x (L). *Hum Pathol* 2001; 32 (5): 545-52.
- [20] Morgado JM, Perbellini O, Johnson RC, et al. CD30 expression by bone marrow mast cells from different diagnostic variants of systemic mastocytosis. *Histopathology* 2013; 63 (6): 780-7.
- [21] Sotlar K, Cerny-Reiterer S, Petat-Dutter K, et al. Aberrant expression of CD30 in neoplastic mast cells in high-grade mastocytosis. *Mod Pathol* 2011; 24 (4): 585-95.
- [22] Tefferi A, Lasho TL, Brockman SR, Elliott MA, Dispenzieri A, Pardanani A. FIP1L1-PDGFRA and c-KIT D816V mutation-based clonality studies in systemic mast cell disease associated with eosinophilia. *Haematologica* 2004; 89 (7): 871-3.
- [23] Reichard KK, Chen D, Pardanani A, et al. Morphologically Occult Systemic Mastocytosis in Bone Marrow: Clinicopathologic Features and an Algorithmic Approach to Diagnosis. *Am J Clin Pathol* 2015; 144 (3): 493-502.
- [24] Alvarez-Twose I, Jara-Acevedo M, Morgado JM, et al. Clinical, immunophenotypic, and molecular characteristics of well-differentiated systemic mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol* 2015.
- [25] Horny HP, Sotlar K, Valent P. Differential diagnoses of systemic mastocytosis in routinely processed bone marrow biopsy specimens: a review. *Pathobiology* 2010; 77 (4): 169-80.
- [26] Damaj G, Joris M, Chandesris O, et al. ASXL1 but not TET2 mutations adversely impact overall survival of patients suffering systemic mastocytosis with associated clonal hematologic non-mast-cell diseases. *PLoS One* 2014; 9 (1): e85362.
- [27] Horny HP, Sotlar K, Sperr WR, Valent P. Systemic mastocytosis with associated clonal hematological non-mast cell lineage diseases: a histopathological challenge. *J Clin Pathol* 2004; 57 (6): 604-8.
- [28] Sotlar K, Colak S, Bache A, et al. Variable presence of KITD816V in clonal hematological non-mast cell lineage diseases associated with systemic mastocytosis (SM-AHNMD). *J Pathol* 2010; 220 (5): 586-95.
- [29] Gadage VS, Kadam Amare PS, Galani KS, Mittal N. Systemic mastocytosis with associated acute myeloid leukemia with t (8; 21) (q22; q22). *Indian J Pathol Microbiol* 2012; 55 (3): 409-12.
- [30] Petit A, Pulik M, Gaulier A, Lionnet F, Mahe A, Sigal M. Systemic mastocytosis associated with chronic myelomonocytic leukemia: clinical features and response to interferon alfa therapy. *J Am Acad Dermatol* 1995; 32 (5 Pt 2): 850-3.
- [31] Motwani P, Kocoglu M, Lorsbach RB. Systemic mastocytosis in association with plasma cell dyscrasias: report of a case and review of the literature. *Leuk Res* 2009; 33 (6): 856-9.
- [32] Schipper EM, Posthuma W, Snieders I, Brouwer RE. Mastocytosis and diffuse large B-cell lymphoma, an unlikely combination. *Neth J Med* 2011; 69 (3): 132-4.
- [33] Doyle LA, Hornick JL. Pathology of extramedullary mastocytosis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2014; 34 (2): 323-39.
- [34] Georgin-Lavialle S, Aguilar C, Guieze R, et al. Mast cell sarcoma: a rare and aggressive entity--report of two cases and review of the literature. *J Clin Oncol* 2013; 31 (6): e90-7.
- [35] Schwaab J, Horny HP, Jonescheit J, et al. Mast cell sarcoma mimicking metastatic colon carcinoma. *Ann Hematol* 2014; 93 (6): 1067-9.
- [36] Chott A, Guenther P, Huebner A, et al. Morphologic and immunophenotypic properties of neoplastic cells in a case of mast cell sarcoma. *Am J Surg Pathol* 2003; 27 (7): 1013-9.

Mastocytoses cutanées

Sylvie Fraitag^{a, b}

RÉSUMÉ

Les mastocytoses sont des maladies rares liées à l'accumulation anormale de mastocytes clonaux dans les organes. La peau représente l'organe cible de prédilection des mastocytoses. Les enfants sont plus souvent atteints sous la forme d'une mastocytose cutanée isolée. Le diagnostic de mastocytoses peut être difficile cliniquement et histologiquement. Les mastocytes pathologiques peuvent prendre différents aspects, les rendant souvent difficiles à différencier d'autres cellules résidentes de la peau. C'est dire l'importance de « petits » signes associés qui doivent orienter le pathologiste si la clinique est en défaut et l'importance de la mise en évidence des mastocytes par colorations spéciales et surtout immunohistochimie avec l'anti-ckit. Les différentes formes anatomo-cliniques des mastocytoses cutanées seront détaillées.

mastocytoses cutanées – diagnostic – histopathologie.

1. Définition, généralités

Les mastocytoses constituent un groupe hétérogène de maladies caractérisées par une accumulation et/ou une activation anormale de mastocytes dans différents tissus, principalement la peau mais possiblement aussi d'autres organes tels que le tissu hématopoïétique (moelle osseuse, foie, rate) et le tube digestif [1]. Elles font partie des maladies rares avec 2 cas/300 000 patients/an consultant en dermatologie [2]. D'apparition le plus souvent sporadique, très rarement familiales, on distingue classiquement les mastocytoses cutanées isolées des mastocytoses systémiques appelées ainsi quand un organe extra-cutané est atteint par une infiltration mastocytaire significative [3]. Les mastocytoses concernent le plus souvent l'enfant sous une forme cutanée isolée, généralement. Les patients adultes jeunes qui développent une atteinte cutanée ont une atteinte systémique dans plus de 60-80 % des cas avec une évolution habituellement chronique et indolente. Les manifestations cliniques des mastocytoses sont variées et liées, d'une part, aux médiateurs pro-inflammatoires mastocytaires libérés par les mastocytes en relation avec une activation mastocytaire, et d'autre part,

à une accumulation cellulaire spécifique anormale dans les tissus, notamment cutanée. Leur physiopathologie est mieux connue depuis la découverte du récepteur à activité tyrosine kinase c-KIT pour le *stem cell factor* (SCF, facteur de croissance mastocytaire) et de ses mutations auto-activatrices dont la présence témoigne du caractère clonal de la maladie [4, 5, 6].

Les mastocytes dérivent de la moelle osseuse d'une cellule souche CD34⁺. Ils mesurent de 8 à 20 µm de diamètre, et sont toujours présents en petit nombre dans la peau normale, autour des vaisseaux du derme superficiel, des follicules pileux et des nerfs. On a en moyenne 20 mastocytes/champ x 40. Leur nombre varie selon les zones du corps : ils sont plus nombreux au niveau des extrémités distales que proximales et périphériques (membres) que centrales (thorax, abdomen). On compte en moyenne 77 mastocytes/mm² dans les zones proximales (bras, cuisse), 108,2/mm² dans les zones distales (mains, pieds). Leur densité la plus élevée se situe sur le nez, le menton, la main et le pied, la densité la plus basse se situe sur l'abdomen [7].

Dans la peau les mastocytes ont une présentation cytologique variable ne les rendant pas toujours aisément reconnaissables. Leur forme « classique » est celle d'une cellule arrondie, centrée par un noyau rond et dense sans nucléole visible et pourvue d'un cytoplasme éosinophile abondant. Ils sont caractérisés par leurs granulations intracytoplasmiques colorables en rouge par le Giemsa et donnant une métachromasie rouge pourpre après coloration par le bleu de toluidine.

SUMMARY

Cutaneous mastocytoses

Mastocytoses are rare disorders linked to the abnormal accumulation of clonal mast cells in the organs. The skin is the preferred target organ of mastocytoses. Children are more often affected with isolated cutaneous mastocytosis. The diagnosis of Mastocytosis may be difficult both clinically and histologically. Pathological mast cells can take on different aspects which make them difficult to differentiate from other resident skin cells. This is why some 'small' associated signs are all the more important to detect because they can direct the pathologist toward the right diagnosis especially if the clinical presentation is not typical and the importance of the highlighting of mast cells by special stains, and especially immunohistochemistry using anti-c-KIT. The different clinico/pathological forms of cutaneous mastocytoses will be described.

cutaneous mastocytoses – diagnosis – histopathology.

a Laboratoire d'anatomo-pathologie

Hôpital Necker - Enfants Malades (APHP)
149, rue de Sèvres - 75015 Paris

b Centre de référence des mastocytoses

CEREMAST - Hôpital Necker - Enfants Malades (APHP)
149, rue de Sèvres - 75015 Paris

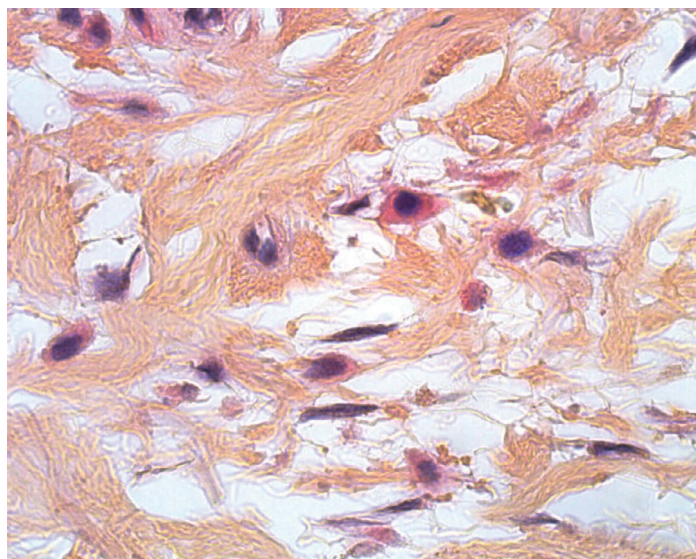
* Correspondance

sylvie.fraitag@aphp.fr

article reçu le 10 octobre, accepté le 19 octobre 2015

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Figure 1 – certains mastocytes sont facilement reconnaissables, mais d'autres sont ovalaires, fusiformes ou étoilés.



Ces granulations contiennent différents composants, en particulier, de l'héparine et de l'histamine, des leukotriènes et des prostaglandines. Les mastocytes expriment la tryptase, l'antigène commun leucocytaire (CD45), le CD43, le CD4, le CD 68, le microphthalmia transcription factor (MITF) et le CD 117 (c-KIT) [8]. On sait que ce sont des mutations de son récepteur c-KIT qui sont vraisemblablement à l'origine de cette pathologie.

Les mastocytes se dégranulent facilement au moindre traumatisme, notamment lors de la simple biopsie. Par conséquent, s'ils peuvent être parfois aisément reconnaissables, ils peuvent aussi prendre de nombreux aspects : ovalaires, fusiformes ou étoilés, les rendant alors impossibles à différencier d'autres cellules résidentes de la peau tels que des fibroblastes ou des macrophages (figure 1). Ils sont en outre présents, en nombre plus ou moins élevé, dans pratiquement tous les processus inflammatoires et tumoraux, sans que l'on sache, en particulier dans les tumeurs, leur rôle exact. C'est le cas, par exemple, des neurofibromes, au sein desquels ils sont constamment retrouvés, leur présence étant d'une grande aide pour le diagnostic lorsque celui-ci est hésitant. Ils sont également quasiment constants dans les hémangiomes infantiles au cours des stades précoces ou des tumeurs myxoides en général. Par conséquent c'est leur caractère prédominant qui permet de parler de mastocytose.

Les mastocytoses cutanées réalisent différents tableaux cliniques. En réalité il s'agit d'un groupe hétérogène en fonction de l'âge de survenue (enfant ou adulte), de la localisation de l'atteinte (cutanée isolée ou systémique), et de l'évolution (indolente ou agressive).

Le signe clinique majeur permettant de les identifier au niveau de la peau est le « signe de Darier » : la friction des lésions induit une turgescence, un érythème et un prurit locaux.

2. Précautions

L'examen anatomopathologique est bien souvent l'élément clef diagnostique de mastocytose chez l'adulte en confirmant le diagnosque clinique cutané et/ou en confirmant l'atteinte spécifique d'organe dans le cadre d'une atteinte systémique [2, 9]. Les mastocytoses cutanées peuvent être difficiles à diagnostiquer, en particulier dans les formes ne comportant pas d'augmentation nette de leur nombre, et, par conséquent, on s'aide de « petits signes » indirects qui doivent orienter vers une mastocytose dès la coloration standard, mais qui sont inconstants ou pas tous présents (Fig 2a, b) :

- Présence d'éosinophiles,
- Augmentation du nombre des vaisseaux dans le derme superficiel et dilatation de ceux-ci,
- Hyperpigmentation de la couche basale épidermique en regard,
- Fibrose du derme superficiel

Les colorations spéciales, Bleu de Toluidine et Giemsa, mettent en général en évidence les granulations pourpres caractéristiques dans les cytoplasmes. Toutefois lorsque les mastocytes sont dégranulés ces colorations peuvent être négatives. L'immunohistochimie est alors d'une grande aide, en particulier le c-KIT, les mastocytes étant les seules cellules du derme exprimant le c-KIT ; dans l'épiderme

Figure 2 a, b : l'augmentation de la vascularisation du derme superficiel et la présence d'éosinophiles doivent faire penser à une mastocytose.

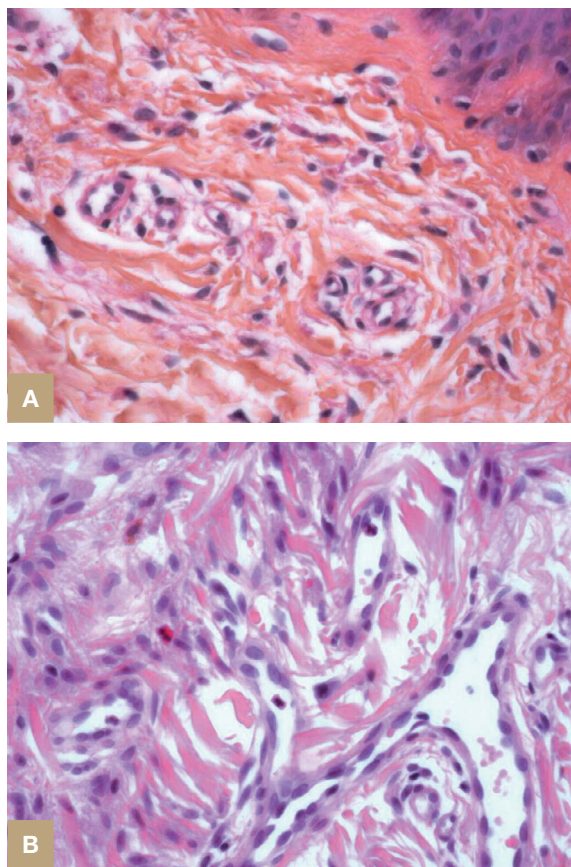
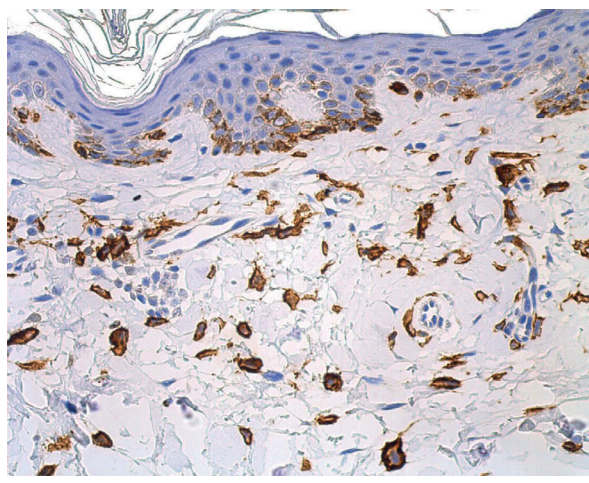


Figure 3 – les mastocytes sont très facilement repérables après marquage par le C-kit.



il marque les mélanocytes, ce marquage servant de témoin positif pour vérifier la qualité de la technique (**figure 3**). L'anticorps anti-tryptase peut également être utilisé mais il est moins spécifique dans le derme et plus difficile à interpréter dans la peau que dans la moelle [9, 10, 11]. Il faut veiller à ne pas porter de diagnostic par excès. Des études quantitatives ont montré que le nombre des mastocytes cutanés dans les mastocytoses était multiplié par 2 à 160 fois la normale. La peau normale peut contenir jusqu'à 15 mastocytes/champ au fort grossissement mais de très nombreuses pathologies inflammatoires peuvent augmenter leur nombre (lichen, érythème polymorphe, prurigo...) [12]. C'est pourquoi il est préférable d'envisager leur nombre relatif plutôt que de les quantifier et de ne poser un diagnostic de certitude que si la majorité des cellules inflammatoires de l'infiltrat est composée de mastocytes [13]. Quoi qu'il en soit le diagnostic sera toujours anatomo-clinique.

3. Manifestations cutanées paroxystiques

Elles sont liées à la libération spontanée ou provoquée de médiateurs mastocytaires. Il s'agit de poussées congestives des lésions cutanées survenant sur des lésions préexistantes, d'un flush cutané ou d'un prurit généralisé.

4. formes de mastocytose

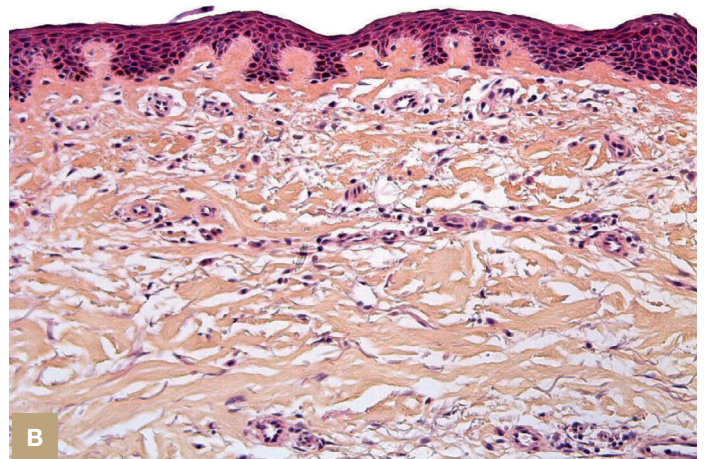
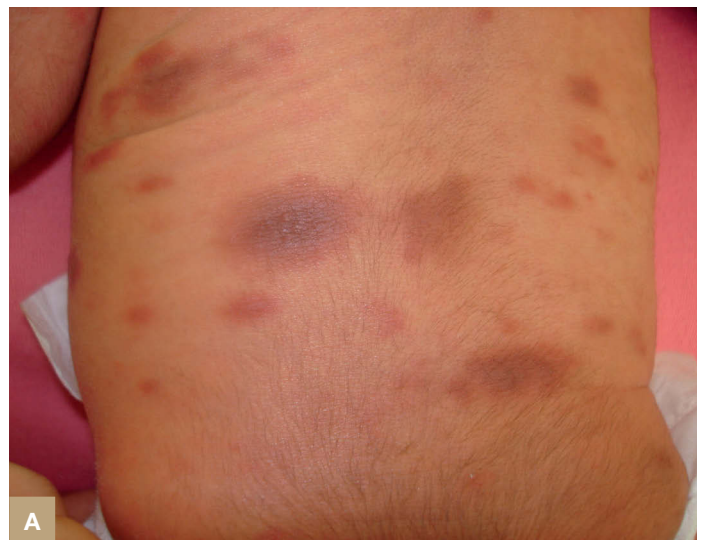
4.1. L'urticaire pigmentaire ou mastocytose maculeuse éruptive

Clinique : il s'agit de la forme la plus fréquente et la plus reconnaissable se manifestant par des macules ou des papules pigmentées, confluent parfois en plaques (**figure 4a**). Leur couleur varie du rouge violacé au brun-beige. Elles prédominent sur le tronc, peuvent atteindre les membres et plus rarement le visage, le scalp, les paumes et les plantes, voire les muqueuses. La turgescence des

éléments après frottement réalise le signe pathognomonique de Darier. Il est inconstant et doit être distingué d'un simple dermographisme, parfois associé. Des formes bulleuses sont parfois décrites, sans qu'elles confèrent un caractère plus sévère à la mastocytose. Le caractère bulleux s'amende en 2 ou 3 ans sans laisser de cicatrices ou parfois quelques lésions post-pigmentaires.

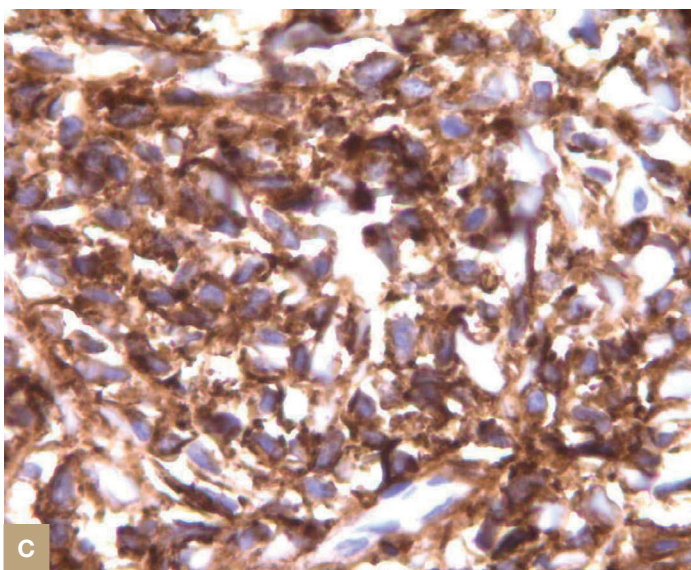
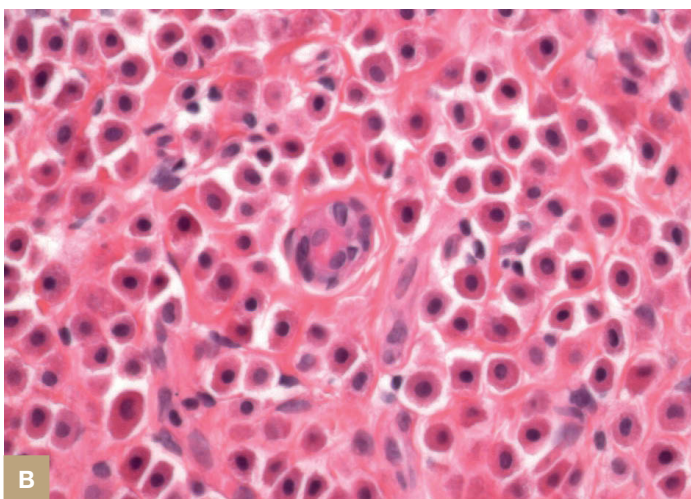
Histopathologie : l'infiltrat est d'intensité variable allant de rares cellules dispersées à de gros agrégats (**figure 4b**). Dans les formes papuleuses, qui sont plus cellulaires, les mastocytes sont grands, bien reconnaissables dès la coloration standard. Mais l'infiltrat est le plus souvent discret constitué de cellules ovalaires ou fusiformes, volontiers localisées dans le derme superficiel dans une topographie péri-vasculaire et interstitielle. Cet aspect est assez peu spécifique et le diagnostic risque de ne pas être porté si on ne pense pas à demander une immunohistochimie avec l'anticorps anti-CD117. Par ailleurs il s'y associe

Fig 4: urticaire pigmentaire



4a) aspect clinique;
4b) présence de mastocytes dispersés et péri-vasculaires dans le derme superficiel et moyen.

Figure 5 – mastocytome.



5a) aspect clinique,
5b) infiltrat cellulaire dermique en nappe dense constituée de cellules volumineuses, ovalaires ou polyédriques à noyau arrondi et au cytoplasme éosinophile;
5c) et marquées par le c-KIT.

généralement une augmentation et une dilatation des vaisseaux du derme superficiel et on peut voir, toutefois de façon inconstante, des éosinophiles [9, 10, 14].

4.2. Forme nodulaire ou mastocytome

Clinique : cette forme se voit presque exclusivement chez l'enfant, en particulier chez le nouveau-né. Elle représente 10 à 15 % des mastocytoses cutanées. La lésion, violacée ou jaune-chamois (*figure 5a*), hémisphérique, assez ferme, est généralement unique chez le nouveau-né et multiple chez le nourrisson et siège sur le tronc ou les extrémités. La régression spontanée est habituelle.

Histopathologie : on voit une infiltration cellulaire dermique en nappe (*figure 5b*) pouvant parfois intéresser également la partie superficielle de l'hypoderme. L'infiltrat est franc et monomorphe composé de cellules volumineuses, ovalaires ou polyédriques par tassement les unes contre les autres, à noyau arrondi et au cytoplasme éosinophile (*figure 5c*). Il est souvent associé à des polynucléaires éosinophiles dispersés. Les cellules sont toujours positives avec les colorations usuelles des mastocytes qui mettent en évidence de très nombreuses granulations rouges intra-cytoplasmiques et également extra-cytoplasmiques.

Diagnostic différentiel : le diagnostic est en général évident dès l'examen standard. Il peut parfois se poser avec un *xanthogranulome juvénile* dans sa forme non xanthomisée, ou un *nævus de Spitz* achromique. Les colorations spéciales ou l'immunohistochimie résolvent facilement le problème. Toutefois il ne faut pas se contenter d'un anti-CD68, car il marquerait aussi bien les mastocytes que les macrophages.

4.3. Mastocytoses en plaque ou mastocytose xanthelasmaïde

Clinique : il s'agit d'une lésion ovalaire bien limitée et étalée de 1 à 5 cm de diamètre, de couleur rouge à jaune chamois. Elle s'observe surtout chez les enfants de bas âge et peut ressembler cliniquement à un *xanthogranulome juvénile* ou à un *nævus congénital*. Les lésions peuvent être multiples mais dans ce cas sont peu nombreuses. Le signe de Darier est inconstant.

Histopathologie : dans cette forme l'infiltrat en mastocytes est franc. Il est tantôt constitué de mastocytes ovalaires ou polyédriques facilement reconnaissables mais parfois de mastocytes fusiformes ou étoilés pouvant être pris pour des fibroblastes (*figures 6 a, b, c*).

La présence habituelle de très nombreux capillaires peut aider au diagnostic et doit inciter à demander un anti-ckit.

4.4. Telangiectasia Macularis Eruptiva Perstans ou mastocytose télangiectasique

Clinique : cette forme ne se voit quasiment que chez l'adulte et est beaucoup plus rare que l'urticaire pigmentaire. Les lésions sont des macules télangiectasiques à bords flous, localisées principalement sur la partie supérieure du tronc. Cette présentation peut être trompeuse du fait de la prédominance des lésions télangiectasiques, de la discrétion de la pigmentation et de l'absence habituelle du signe de Darier.

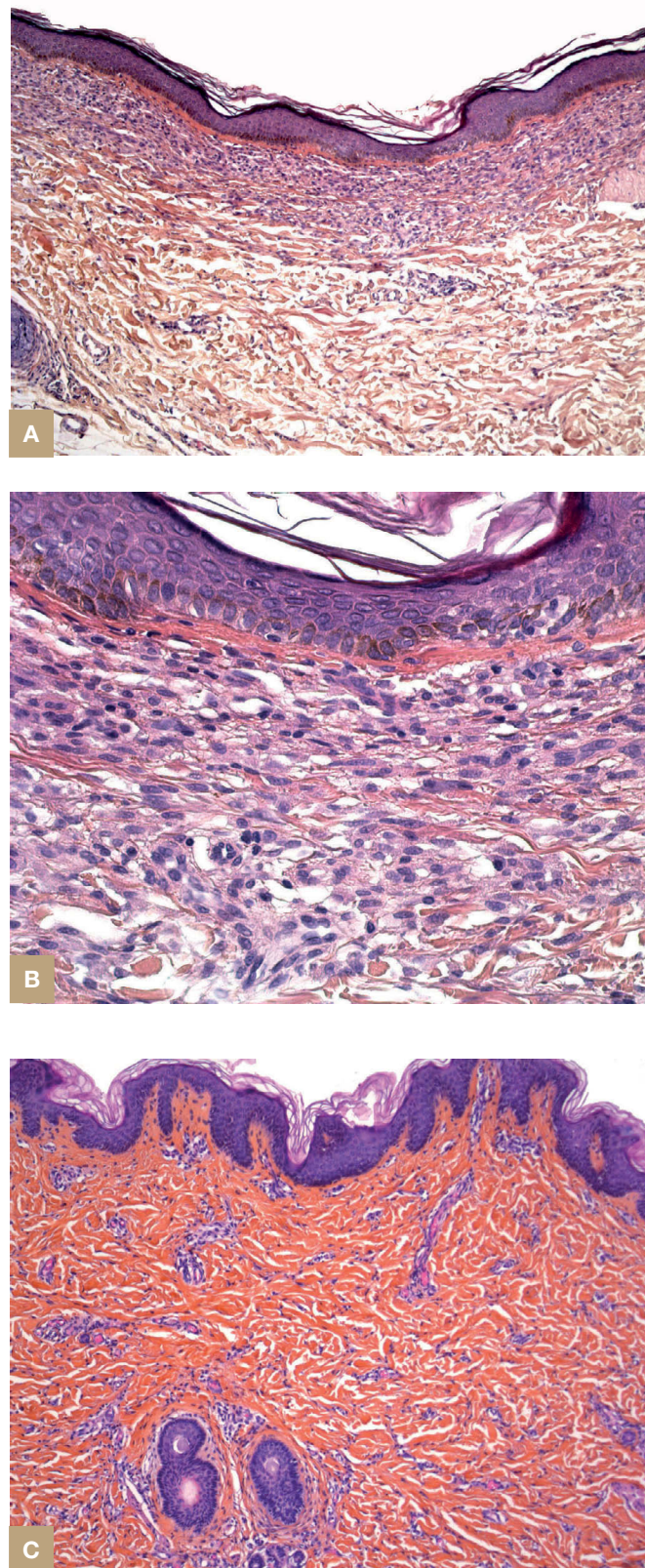
Histopathologie : les signes sont très subtils représentés par une très discrète augmentation du nombre des mastocytes d'allure en général fusiforme, autour de vaisseaux dilatés, dans le derme superficiel (*figures 7a, b*). Les éosinophiles sont en général absents. Par conséquent il s'agit de la forme dont le diagnostic histologique est le plus difficile, le nombre absolu de mastocytes pouvant être très faible. C'est là que les renseignements cliniques prennent toute leur importance, et que l'on doit l'évoquer systématiquement devant la présence de capillaires dilatés sur une biopsie discrètement inflammatoire du thorax et donc penser à demander un anti-ckit (*figure 7c*). Même si les mastocytes sont peu nombreux, discrets dans la mesure où ils représentent la cellule prédominante au sein d'un infiltrat inflammatoire souvent très discret, on peut se permettre de proposer le diagnostic [9, 10].

4.5. Mastocytose cutanée diffuse

Clinique : c'est une forme très rare. Elle se caractérise par une infiltration mastocytaire généralisée du tégument. Sur une grande partie du corps, la peau est épaissie, volontiers jaunâtre et de consistance pâteuse. Il s'y associe des papules bien visibles à jour frisant et donnant un aspect granité. Les lésions sont accentuées dans les grands plis de flexion. Ailleurs, l'aspect de la peau peut être normal, érythrodermique ou pachydermique. Le prurit est parfois très intense. Les bulles et les érosions post-bulleuses sont fréquentes, voire au premier plan.

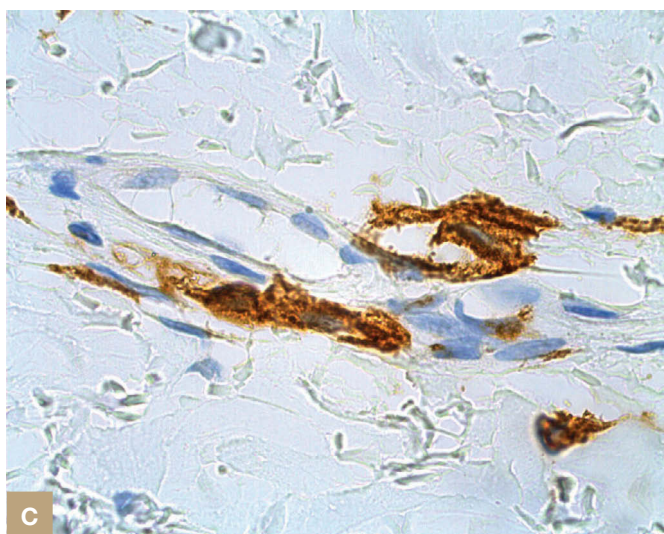
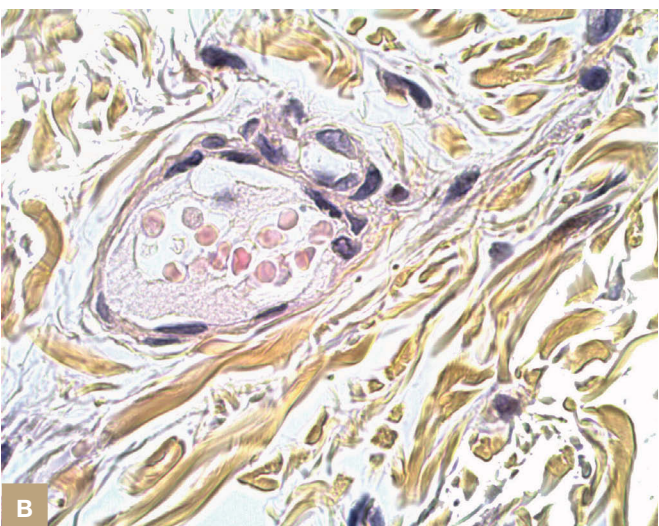
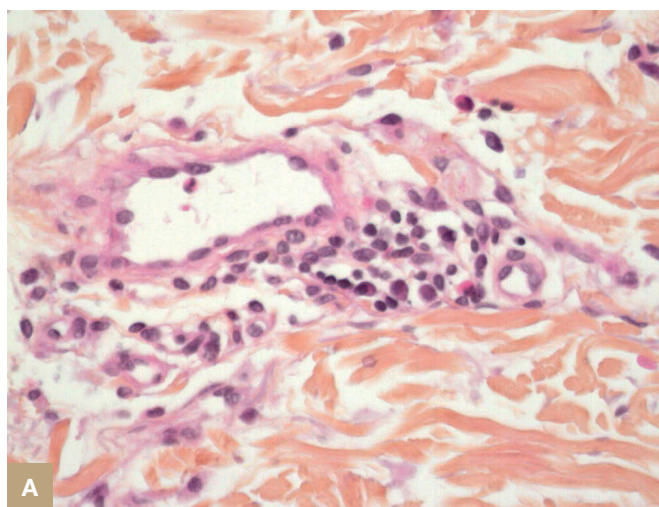
Histopathologie : on observe des mastocytes augmentés autour des vaisseaux et dans l'interstitium aussi bien dans le derme réticulaire que dans le derme papillaire. Ces mastocytes peuvent être ronds, fusiformes ou histiocytoides (*figure 8a*). Comme dans la forme maculeuse on peut observer des éosinophiles mais, dans cette

Figure 6 – mastocytose en plaque.



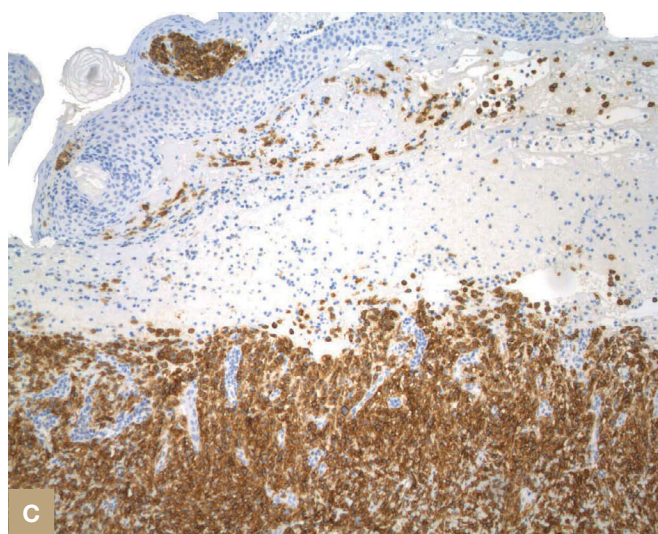
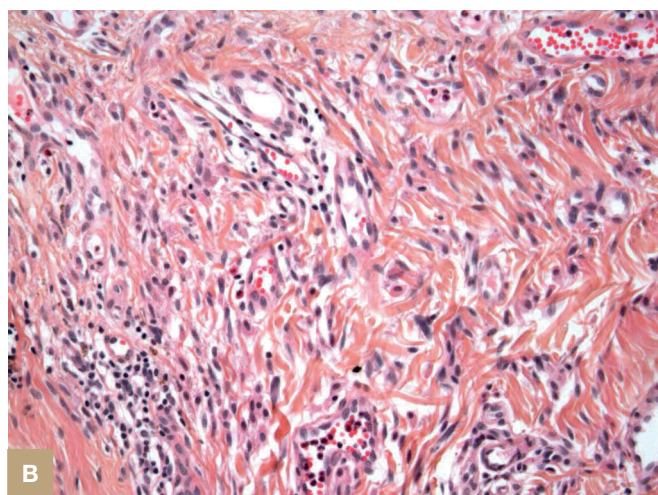
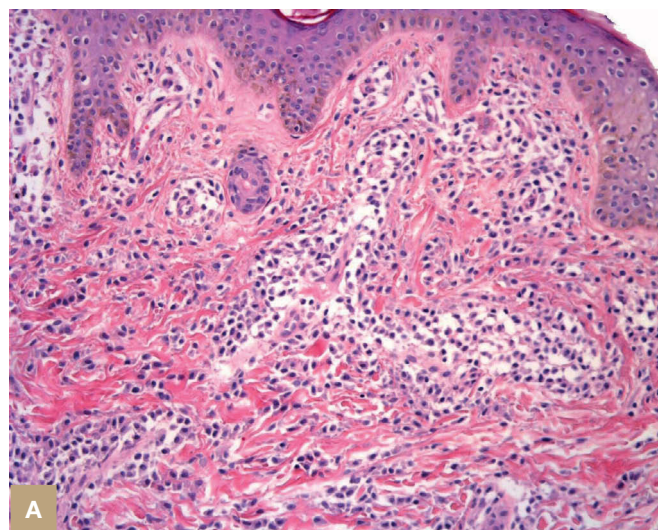
5 a, b) nappe de mastocytes dans le derme superficiel aisément reconnaissables morphologiquement ;
5c) aspect beaucoup plus difficile à reconnaître : mastocytes fusiformes isolés et hypervascularisation marquée.

Figure 7 – TMEP.



7 a, b) présence de vaisseaux dilatés comportant, à leur périphérie, des cellules rondes et des éosinophiles. Le c-KIT montre que la plupart des cellules rondes ou histiocytoides sont des mastocytes (7 c).

Figure 8 – mastocytose cutanée diffuse.



8a) mastocytes arrondis en nappe dans le derme superficiel, aisément reconnaissables.
8b) derme moyen : mastocytes fusiformes, nombreux vaisseaux, fibrose marquée
8c) forme bulleuse (C-KIT) : décollement sous épidermique

forme surtout, on peut observer une fibrose marquée du tissu conjonctif (*figure 8b*). Dans les formes bulleuses le clivage se fait à un niveau variable : sous-corné, intra-épidermique, surtout sous-épidermique. La cavité contient des mastocytes. Le toit est souvent nécrotique et œdémateux (*figure 8c*).

4.6. Mastocytoses systémiques

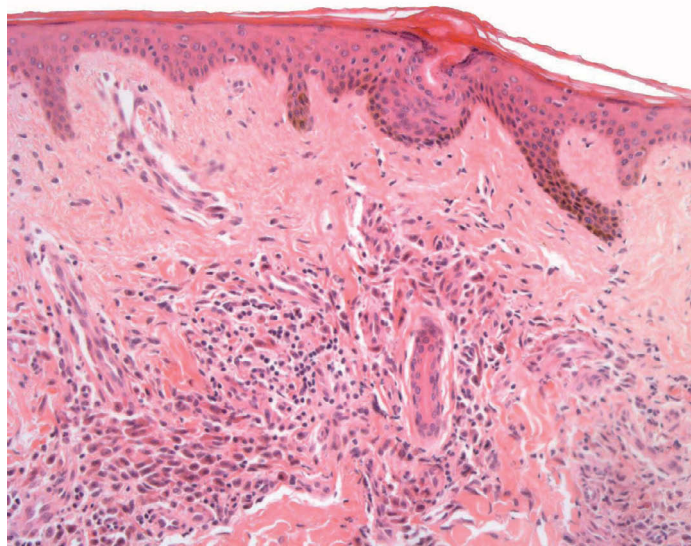
Les mastocytoses cutanées peuvent être associées à des localisations viscérales diverses, en particulier dans le tissu hématopoïétique et le tube digestif. On peut également rencontrer des leucémies à mastocytes.

Exceptionnellement dans ce cas les cellules peuvent être atypiques avec des noyaux volumineux, irréguliers et des mitoses (*figure 9*). Les cellules peuvent exprimer le CD2, le CD25 et parfois le CD30, quoique sans véritable parallélisme entre la peau et les organes atteints [15].

Le sarcome à mastocytes est exceptionnel sur la peau. Il constitue une localisation tumorale cutanée et est d'évolution fatale [16].

Déclaration d'intérêts : l'auteur déclare ne pas avoir de liens d'intérêts en relation avec cet article.

Figure 9 – atteinte cutanée d'une leucémie à mastocytes. Mastocytes volumineux, allongés, très irréguliers.



Références

- [1] Pardanani A. Systemic mastocytosis in adults: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol* 2012; 87: 401-11.
- [2] Barete S. Les mastocytoses. *Ann Dermatol Venerol* 2014; 141: 698-714.
- [3] Georgin-Lavalle S, Barete S, Suarez F et al. Actualité sur la compréhension et le traitement des mastocytoses systémiques. *Rev Med Interne* 2009; 30: 25-34.
- [4] Lim KH, Pardanani A, Tefferi A. Kit and mastocytosis. *Acta Haematol* 2008; 119: 194-8.
- [5] Lanternier F, Cohen-Akenine A, Palmerini F et al. Phenotypic and genotypic characteristics of mastocytosis according to the age of onset. *Plos One* 2008; 3: e1906.
- [6] Bodemer C, Hermine O, Palmerini F et al. Pediatric mastocytosis is a clonal disease associated with D816V and other activating c-KIT mutations. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 804-15.
- [7] Weber A, Knop J, Maurer M; pattern analysis of human cutaneous mast cell populations by total body surface mapping. *Br J Dermatol*. 2003; Feb; 148 (2): 224-8.
- [8] Sueki H, Whitaker-Menezes D, Kligman AM. Structural diversity of mast cell granules in black and white skin. *Br J Dermatol* 2001; Jan; 144 (1): 85-93.
- [9] Freitag-Spinner S: Mastocytoses cutanées. *Ann Dermatol Venerol* 2007 Jun-Jul; 134 (6-7): 589-92.
- [10] Freitag S. Mastocytoses. In: Wechsler J, editor. *Histopathologie cutanée non tumorale*. Paris: Sauramps Médical; 2013.p.407-16.
- [11] Chin-Yang Li: Diagnosis of mastocytosis: value of cytochemistry and immunohistochemistry. *Leukemia Research* 2001, 25: 537-541.
- [12] O'Neill M, Thomas LM, Boyd AS. Cutaneous mast cell counts--what constitutes a 'normal' number? *J Cutan Pathol* 2010; 37 (8): 919-21.
- [13] Ackerman B: Histologic diagnosis of inflammatory skin diseases. An algorithmic Method Based On Pattern Analysis. Second Edition. A Bernard Ackerman. William & Wilkins, 1997.
- [14] Wolff K, Komar M, Petzelbauer P: Clinical and histopathological aspects of cutaneous mastocytosis. *Leukemia Research* 2001, 25: 519-528.
- [15] Lange M, Zawrocki A, Nedoszytko B et al. Does the aberrant expression of CD2 and CD15 by skin mast cells truly correlate with systemic involvement in patients presenting with mastocytosis in the skin. *Int Arch Allergy Immunol*. 2014; 165 (2): 104-10.
- [16] Georgin-Lavalle S, Aguilar C, Guleze R et al: Mast cell sarcoma: a rare and aggressive entity-report of two cases and review of the literature. *J Clin Oncol* 2013; 31: e90-7.

Les biomarqueurs circulants du cancer : avantages et perspectives

Claire Dolfus^a, Emmanuel Toure^a, France Blanchard^a, Jean-Christophe Sabourin^{a, b}

RÉSUMÉ

Les principaux biomarqueurs circulants du cancer sont les cellules tumorales circulantes (CTC) et l'ADN tumoral circulant (ADNtc).

Les CTC, cellules issues de la tumeur, présentes dans la circulation sanguine, peuvent être détectées après diverses techniques d'enrichissement. Les CTC isolées par technique Veridex[®] ont été validées par la Food and Drug Administration (FDA) comme un marqueur pronostique et de suivi dans les cancers mammaires, prostatiques et colorectaux. Les CTC sont également prometteuses comme marqueur diagnostique et prédictif de réponse aux thérapies ciblées. Les techniques microfluidiques, nanostructures permettant la manipulation de microlitres de fluides, permettent d'augmenter la précision et la sensibilité de l'enrichissement.

L'ADNtc, issu de la sécrétion active des cellules vivantes ou passive de cellules en nécrose, est décelé par la recherche de mutations dans l'ADN libre plasmatique par différentes techniques. Des mutations de sensibilité ou de résistance à des thérapies ciblées peuvent être analysées. L'ADNtc montre aussi un intérêt comme marqueur pronostique et de suivi tumoral. Dans les tumeurs difficilement accessibles, l'ADNtc peut être une aide diagnostique. De nouvelles plateformes automatisées proposent la recherche d'ADNtc en moins de 150 minutes.

Dans l'avenir, des techniques plus sensibles et plus rapides pour ces deux biomarqueurs circulants, pourraient permettre un véritable monitoring et ainsi une thérapie personnalisée adaptée à chaque étape de la maladie tumorale.

Cellules tumorales circulantes – ADN tumoral circulant – cancer, biomarqueur – pronostic – diagnostic, suivi, prédictif.

1. Introduction

Un biomarqueur circulant est un paramètre biologique détectable dans le sang lié à un processus pathologique.

Les deux principaux biomarqueurs circulants du cancer sont les cellules tumorales circulantes (CTC) et l'ADN tumoral circulant (ADNtc).

Les CTC sont des cellules issues de la tumeur primitive ou secondaire qui entrent dans la circulation sanguine par une intravasation active ou passive [1]. Certaines de ces

cellules pourront être à l'origine de métastases après avoir acquis de nombreux avantages leur permettant l'extravasation, la survie et la prolifération dans le tissu cible. Pour identifier les CTC, étant donné leur faible fréquence dans le sang, 1 CTC/10⁶-10⁸ cellules hématopoïétiques [2], un enrichissement préalable est nécessaire. Puis, les CTC vont être identifiées par leur morphologie, leur capacité fonctionnelle ou leurs caractéristiques immunophénotypiques ou moléculaires.

L'ADNtc est l'ADN d'origine tumorale présent dans la partie extra-cellulaire du sang (plasma). Il provient d'une part des cellules vivantes qui le sécrètent activement et d'autre part, de manière passive, des cellules en nécrose ou en apoptose [3]. Chez les patients atteints d'un cancer, l'ADNtc correspond à une très petite fraction de l'ADN libre circulant représentant parfois moins de 0.01 % et souvent moins de 1 % [4]. De façon pratique, on va mettre en évidence une anomalie récurrente présente dans l'ADNtc comme par exemple une mutation ponctuelle d'un oncogène

SUMMARY

Circulating tumor cells (CTC) and circulating tumor DNA (ctADN) are the main circulating biomarkers for cancer.

CTCs, arising from the tumor present in the blood stream, can be detected after various enrichment techniques. CTCs isolated by Veridex[®] technology has been validated by the FDA as a prognostic and follow up marker in breast, prostate and colorectal cancers. CTCs are also promising as a diagnostic and predictive marker of response to targeted therapies. Microfluidic techniques, nanostructures handling microliters of fluids, can increase the accuracy and sensitivity of enrichment. ctDNA, resulting from the active secretion of living tumor cells or passive secretion of tumor cells in necrosis, is detected by the search for mutations in plasma free DNA using various techniques. Therapy predictive mutations can be analyzed using ctDNA. ctDNA is also interesting as a prognostic and follow-up marker. In case of difficulties to sample tumors, ctDNA can be an interesting diagnostic tool. New automated platforms offer easy ctDNA detection in less than 150 minutes. In the near future, more sensitive and faster techniques for these circulating biomarkers will facilitate real-time monitoring enabling personalized therapy tailored to each stage of tumor disease.

Circulating tumor cells CTC – circulating DNA – cancer – biomarker – prognosis – diagnosis – monitoring – predictive.

a Service d'anatomie et cytologie pathologiques

Centre hospitalier universitaire de Rouen
1 rue de Germont, Rouen Cedex 76031.

b Inserm U1079, Institute for Biomedical Research and Innovation

University of Rouen and Rouen University Hospital
22 Boulevard Gambetta, CS 76183, Rouen Cedex 76183, France

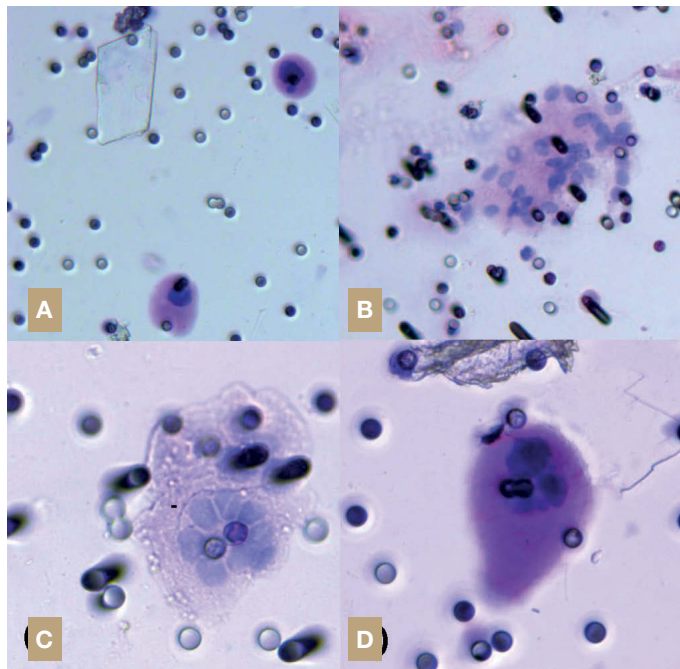
* Correspondance

claire.dolfus584@orange.fr

article reçu le 10 octobre, accepté le 19 octobre 2015

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Figure 1. A-D : Amas de cellules tumorales circulantes avec une anisocaryose, de larges noyaux et des nucléoles visibles (taille d'un pore du filtre = 7,5 µm)



comme *KRAS*, *EGFR*, *BRAF* ou *NRAS* qui servira de traqueur tumoral.

Les avantages, applications et perspectives qu'offrent ces deux marqueurs sont développés dans cette revue de la littérature.

2. Les cellules tumorales circulantes

2.1. Avantages et applications

2.1.1. Technique

Avant l'identification, une étape d'enrichissement, basée sur les propriétés physiques ou biologiques des CTC, est nécessaire. Ces techniques sont séparées en techniques antigène-dépendantes et indépendantes.

Les techniques antigène-dépendantes réalisent une capture des CTC par des anticorps spécifiques d'antigènes de surface. La plus utilisée est le système Cellsearch® (Veridex®) qui est le seul système de screening approuvé par la Food and Drug Administration (FDA). Dans cette technique, l'antigène de surface utilisé est EpCAM, un marqueur épithélial [5]. Des anticorps anti-EpCAM liés à des billes magnétiques sont mélangés au sang ; l'application d'un fort courant magnétique permet la séparation des CTC EpCAM+ des éléments sanguins. Ces méthodes d'enrichissement sont controversées car les CTC peuvent perdre l'expression de marqueurs épithéliaux notamment EpCAM lors de l'acquisition d'un phénotype mésenchymateux au cours de l'oncogénèse. Ce processus, appelé transition épithélio-mésenchymateuse (EMT), augmente le potentiel invasif des cellules et semble

jouer un rôle dans l'initiation de métastases [6]. Ces cellules tumorales en EMT, non détectées par les techniques antigène-dépendantes [7] peuvent être détectées par les techniques antigène-indépendantes.

Parmi les techniques antigène-indépendantes, les dispositifs de sélection par la taille (ISET®, Screencell®) sont constitués d'un filtre avec des pores de 6.5 à 8 microns permettant de laisser passer la plupart des cellules sanguines et de retenir les CTC de plus grande taille (figure 1) [8]. Par ailleurs, une des premières techniques employées était la centrifugation par gradient de densité (Ficoll® Oncoquick®) ; elle est maintenant utilisée en amont d'une technique microfluidique.

Les CTC sont hétérogènes témoignant de l'hétérogénéité tumorale [9]. Un enrichissement de ces CTC (sélection négative) peut être réalisé par la soustraction des lymphocytes du sang grâce à une technique immuno-magnétique utilisant des anticorps anti-CD45+, marqueur de surface lymphocytaire [10].

Des techniques microfluidiques, systèmes manipulant de petites quantités de fluides, antigène-dépendantes ou indépendantes, ont émergé ces dernières années et seront abordées dans le chapitre Perspectives.

La technique Veridex® définit les CTC sur leur profil immunocytochimique (EpCAM+ cytokératine+ et CD45-). Les techniques ISET® et SCREENCELL® utilisent classiquement des critères morphologiques similaires à ceux de la cytologie classique pour identifier les CTC après coloration en hématoxyline éosine ou en May-Grünwald-Giemsa. Mais de nombreuses techniques peuvent être réalisées en aval afin de caractériser ces cellules : culture, hybridation in situ, biologie moléculaire et vont permettre différentes applications cliniques.

2.1.2. Un intérêt pronostique

La recherche de CTC par la technique Veridex® a été cliniquement validée comme un marqueur pronostique dans les cancers métastatiques colorectaux, mammaires et prostatiques : en effet, la présence de CTC est associée à une diminution de la survie globale [11 – 13]. Hofman et al. ont également montré que les CTC détectés par ISET® dans le cancer pulmonaire était un facteur pronostique indépendant pour la survie sans progression [14] et que le seuil de 50 CTC était associé avec une survie globale plus courte. Une valeur pronostique des CTC a été rapportée pour d'autres cancers : carcinome ovarien [15], carcinome hépatocellulaire [16], carcinomes neuro-endocrines [17].

2.1.3. Monitoring

Le système Veridex® est également validé par la FDA comme une aide dans le suivi des patients dans les cancers mammaires, prostatique et colorectaux. Chinen et al. ont également montré un intérêt des CTC isolées par filtration par la technique ISET® dans le suivi d'un patient atteint d'un cancer indifférencié du poumon [18]. L'augmentation du nombre de CTC semble corrélérer avec la récurrence et la diminution de leur nombre ou l'absence de détection serait en faveur d'une efficacité thérapeutique.

2.1.4. un intérêt prédictif

La recherche de mutations de sensibilité ou de résistance aux thérapies ciblées est faisable sur CTC : la transloca-

tion d'*ALK* peut être recherchée après enrichissement par filtration dans les CTC dans l'adénocarcinome pulmonaire par hybridation *in situ* ou immunocytochimie permettant ainsi une indication à la thérapie ciblée par Crizotinib® [19]. Marchetti et al. ont mis en évidence des mutations d'*EGFR* par séquençage de nouvelle génération (NGS) sur les CTC isolées par technique Veridex® chez des patients atteints de cancers non à petites cellules du poumon [20]. D'autres facteurs prédictifs ont été étudiés : la mise en évidence de facteurs influençant le métabolisme d'un traitement comme la thymidylate synthétase, enzyme impliquée dans le métabolisme du 5- fluorouracil a été réalisée sur les CTC de patients atteints de cancers du colon métastatiques permettant ainsi de prédire la résistance à ce traitement [21].

Chen et al. ont étudié l'expression de gènes impliqués dans la transition épithélio-mésenchymateuse sur cellule unique après enrichissement par filtration et micromanipulation à partir de CTC de cancers prostatiques : ces gènes étaient plus souvent exprimés dans les cancers résistants à la castration que dans les cancers sensibles à la castration [22]. Ainsi, une signature moléculaire pourrait prédire la sensibilité à la castration et orienter le choix thérapeutique. Ainsi, les CTC permettraient un monitoring de facteurs prédictifs durant les différentes étapes de la maladie. De plus, les CTC pourraient être plus représentatives de l'hétérogénéité tumorale qu'un petit fragment de tumeur.

2.1.5. Un intérêt diagnostique

Les CTC peuvent montrer un intérêt diagnostique dans les tumeurs pour lesquelles l'obtention d'un prélèvement histologique est difficile. Notre groupe a évalué le bénéfice des CTC enrichies par une technique de filtration Screencell® dans les tumeurs pancréatiques, habituellement diagnostiquées par cytoponction pancréatique sous échographie [23]. La sensibilité et la spécificité étaient de 55.5 % (95 % CI 40.1 %-70.9 %) et 100 % (95 % CI 75 %-100 %), respectivement. Les CTC représentent ainsi une alternative diagnostique non invasive à la cytoponction pancréatique. Les tumeurs pulmonaires sont également souvent difficiles d'accès : Fiorelli et al. ont réuni une cohorte de 77 patients présentant des pathologies bénignes et malignes pulmonaires, la sensibilité diagnostique des CTC isolées par ISET® pour un seuil à 25 était 89 % et la spécificité 100 % [24] avec dans 72 % des cas positifs, un diagnostic exact du type histologique grâce à l'étude immunocytochimique.

La détection des CTC pourrait avoir un intérêt dans le dépistage du cancer. Les CTC semblent pouvoir être détectées au début du développement tumoral [25]. Ilie et al. ont étudié la présence de CTC dans les bronchopneumopathies chroniques obstructives, facteur prédisposant au cancer pulmonaire [26] : cinq patients présentaient des CTC sans signes cliniques ni radiologiques de tumeur et ont été surveillés annuellement par scanner hélicoïdal à basse dose. Pour tous ces patients, des nodules pulmonaires, correspondant histologiquement à des cancers pulmonaires débutants, ont été détectés 1 à 4 ans plus tard. Ces CTC « sentinelles » pourraient ainsi prédire la survenue de cancers dans une population à haut risque et pourraient être utilisées dans un programme de dépistage.

2.2. Perspectives

2.2.1. Les techniques plus précises et sensibles : les techniques microfluidiques

Les systèmes microfluidiques permettent un enrichissement de CTC plus précis et plus efficace que les dispositifs d'enrichissement traditionnels. Pour les techniques d'enrichissement antigène-dépendantes, la circulation des cellules dans des structures de dizaine de micromètres recouvertes d'anticorps (chevrons sur la puce Herringbone chip® et microplots sur la puce CTCchip®) permet une augmentation de la probabilité de rencontre avec l'anticorps [27, 28]. La CTCchip® permet également une sélection négative des CTC par un anticorps anti-CD45 [29]. Les systèmes sélectionnant les cellules par la taille sont basés sur une filtration plus efficace que les techniques classiques [30]. Ces technologies permettent d'obtenir une très bonne sensibilité : Negrath et al. mettent en évidence des CTC chez 99 % des patients atteints de cancers métastatiques (115/116) [28]. De plus, ces technologies peuvent faciliter les applications en aval sur les CTC [31]. Mais ces nouvelles technologies doivent être testées sur de grandes séries de patients pour établir leur validité clinique.

2.2.2.... et des applications de plus en plus nombreuses !

Au niveau thérapeutique, la culture de CTC permet l'accès à des tests précliniques de sensibilité thérapeutique. En effet, Maheswaran et al. ont mis en culture, après enrichissement par CTCchip®, des CTC chez des patientes atteintes de cancer du sein [32]. Certaines de ces lignées formaient des tumeurs chez la souris et des mutations « *driver* » et « *actionable* » apparues secondairement ont été mises en évidence sur certaines d'entre elles. Sur une des lignées présentant des mutations de *FGFR2* et *PIK3CA*, l'association de thérapies ciblées anti-FGFR2 et anti-PIK3CA a montré un effet synergique induisant la mort des cellules. Ainsi, les tests précliniques sur les cultures de CTC pourraient permettre une thérapie personnalisée adaptée à chaque étape de la maladie.

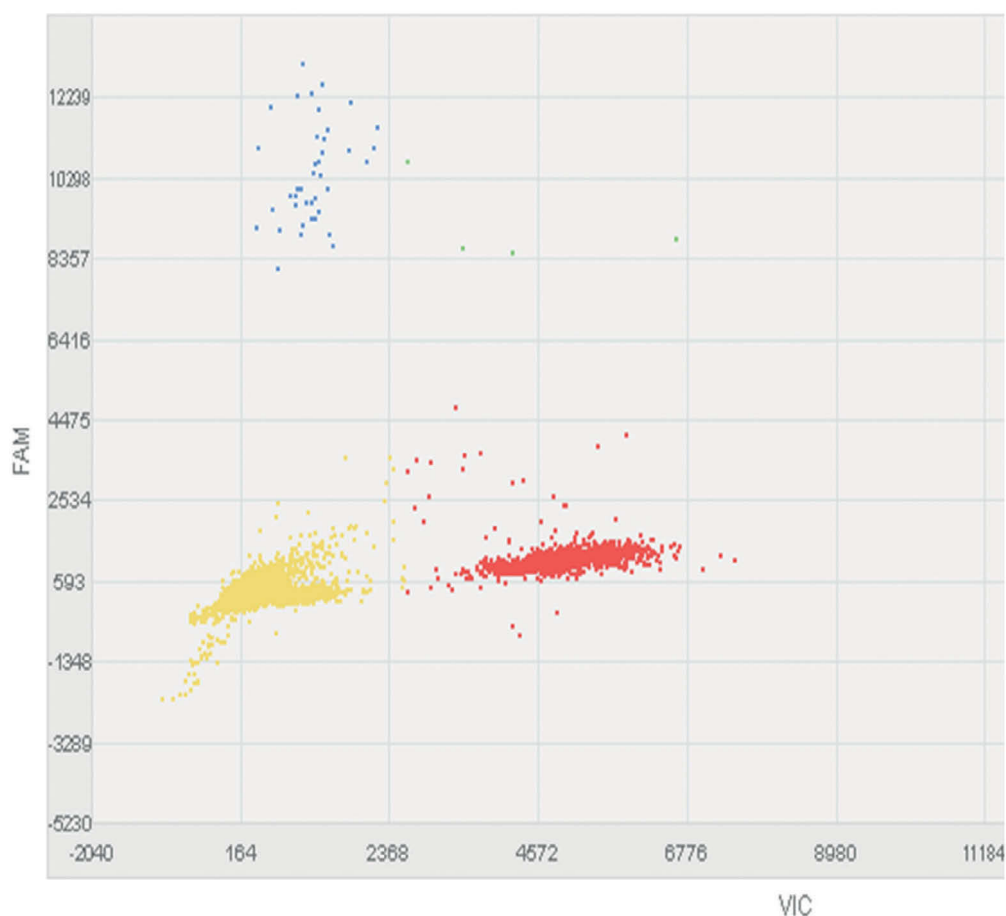
3. L'ADN tumoral circulant

3.1. Avantages et applications

3.1.1. Technique

Ce matériel est facilement accessible. Le sang total doit être prélevé sur tube EDTA et techniqué dans les 4 h suivant la ponction veineuse. Il est possible d'utiliser des tubes STRECK® (Cell-Free DNA BCT®) qui permettent de conserver jusqu'à 14 jours à température ambiante ces échantillons avant extraction. Après centrifugation « douce » qui permet de ne pas lyser les leucocytes (pour ne pas libérer l'ADN contenu dans ces cellules), l'extraction de l'ADN libre circulant est réalisée à partir de quelques millilitres de sérum ou de plasma. Les techniques de haute sensibilité comme le séquençage haut débit ou séquençage de nouvelle génération (NGS) et la PCR digitale, seront favorisées afin de détecter l'ADNtc chez le plus grand nombre de patients, en particulier ceux présentant une faible quantité d'ADNtc. Pour rappel, le principe des

Figure 2.: Détection d'ADN tumoral circulant par PCR digitale sur puce.



La présence d'une mutation de *KRAS* est identifiée par des sondes Taqman® sur des multiples réactions de PCR parallèles dans les micro-puits de la puce. Chaque point représente un micro-puit avec une fluorescence en VIC pour la sonde sauvage (en rouge) et une fluorescence en FAM pour la sonde mutée (en bleu).

PCR digitales est de répartir une à zéro copies d'ADN de l'échantillon dans des micro-compartiments afin de réaliser de multiples réactions de PCR parallèles permettant la détection de variants rares (*figure 2*). Ainsi, une bonne sensibilité peut être atteinte. Pour le NGS, c'est la profondeur de séquençage qui sera utilisée pour pouvoir mettre en évidence l'anomalie moléculaire présente dans l'ADNtc. Bettgowda et al. ont recherché la présence d'ADNtc chez 640 patients atteints de différents cancers par une technique de séquençage haut débit : l'ADNtc était détectable dans plus de 75 % des patients atteints de tumeurs avancées pancréatiques, ovariennes, colorectales, urinaires, gastro-oesophagiennes, mammaires, hépatocytaires, des voies aéro-digestives supérieures et de mélanomes et dans 48 à 73 % des patients atteints de cancers localisés d'origine colorectale, gastro-oesophagienne, pancréatique et mammaire [33].

3.1.2. Un intérêt diagnostique

L'ADNtc peut avoir un intérêt diagnostique. En effet, certaines tumeurs ne sont pas accessibles à un prélèvement contributif. Dans ces cas, l'ADNtc peut être une aide au diagnostic. On recherchera alors au niveau de l'ADNtc les mutations les plus fréquemment décrites dans le type tumoral donné. Par exemple, dans l'adéno-

carcinome pancréatique, des mutations somatiques de *KRAS* sont présentes dans la majorité des tumeurs (34). Dans les cas où la cytoponction n'est pas contributive, l'ADNtc peut représenter une alternative diagnostique : Maire et al. ont recherché une mutation de *KRAS* exon 2 dans le plasma de patients atteints d'adénocarcinome pancréatique ou de pancréatite chronique par amplification spécifique d'allèle [35]. La sensibilité et la spécificité de cette technique étaient de 47 % et 87 % et les résultats montraient ainsi un intérêt dans le diagnostic différentiel entre adénocarcinome pancréatique et pancréatite chronique.

3.1.3. Un intérêt pronostique

L'ADNtc peut représenter également un marqueur pronostique. En effet, dans le cancer colorectal, la présence d'une mutation de *KRAS* en préopératoire dans l'ADNtc et sa persistance en postopératoire sont associés à un pronostic plus péjoratif [36,37]. Notre équipe a montré que chez les patients atteints d'un carcinome colorectal métastatique, la survie globale était plus courte lorsque la proportion d'ADNtc dans l'ADN libre circulant était importante par quantification par PCR digitale (> 75 %) *versus* une faible proportion (< 25 %) (4.8 mois *versus* non atteinte ($p = 0.029$) [38].

La quantité d'ADNtc est donc le reflet de la charge tumorale, l'ADNtc étant corrélé à la quantité de cellules tumorales présentes dans un individu.

3.1.4. Monitoring

L'ADNtc peut également être un marqueur de l'évolution tumorale et peut permettre un suivi en temps réel de la tumeur en fonction d'un traitement ou d'une récurrence. Tsao et al. ont réalisé une étude longitudinale de 6 patients atteints de mélanome : l'ADNtc, détecté par une mutation de *BRAF*, *NRAS* ou *KRAS* par PCR digitale en gouttelette, montrait une dynamique parallèle au statut tumoral [39]. Ainsi, une adaptation thérapeutique plus rapide serait envisageable.

3.1.5. La recherche de mutations à visée théranostique

L'ADNtc permet également un accès aux mutations somatiques de la tumeur, en particulier les mutations à visée théranostique. En effet, les tumeurs accessibles par biopsies ou micro-biopsies donnent lieu à un matériel tissulaire exigu qui rend parfois difficile la recherche de mutations qui n'a de valeur que lorsque la mutation recherchée est retrouvée (risque de faux négatif). Plusieurs études ont montré la concordance des mutations sur l'ADNtc et sur la tumeur [40]. Dans l'adénocarcinome pulmonaire, où la recherche des nombreuses mutations à visée thérapeutique doit être maintenant un standard incontournable dans la prise en charge des patients, l'ADNtc représente une alternative intéressante. Plusieurs équipes ont montré la possibilité de rechercher les mutations de sensibilité aux anti-EGFR dans le plasma [41]. Ces études ont permis une modification de l'AMM : en effet, si une tumeur n'est pas accessible à un prélèvement, ou si le prélèvement n'est plus exploitable pour la biologie moléculaire, l'ADNtc peut être utilisé pour rechercher les mutations de sensibilité aux anti-EGFR (Modification AMM 26/09/2014). Couraud et al. ont détecté les mutations des gènes *EGFR*, *KRAS*, *BRAF*, *ERBB2*, et *PIK3CA* par séquençage haut débit sur l'ADNtc de patients non-fumeurs atteints d'adénocarcinome pulmonaire avec une sensibilité de 58 % (intervalle de confiance à 95 % : 43 %-71 %) et une spécificité de 87 % (62 %-96 %) [42]. L'ADNtc peut également permettre de détecter l'apparition d'une mutation de résistance. Dans le cancer du sein, notre équipe a recherché la présence d'une mutation d'*ESR1*, mutation de résistance aux anti-aromatases, dans la tumeur, la métastase et le plasma de 7 patients montrant une stabilité ou une réponse aux anti-aromatases avant une progression : chez 4 patients, l'apparition d'une mutation a été détectée dans la métastase et le plasma par PCR digitale [43]. La détection de ces mutations peut permettre de prédire l'évolution du cancer et ainsi d'adapter le traitement.

3.2. Perspectives

3.2.1. Une technique simplifiée...

De nouvelles plateformes automatisées proposent par un système intégré de PCR en temps réel une recherche de mutations rapide (Idylla® de Biocartis®). Après une extraction automatisée d'ADN libre circulant à partir d'1 mL de plasma, une mutation de *BRAF* codon 600 peut être recherchée

avec une sensibilité atteignant 0,1 % d'allèle muté en un temps de 40 à 150 minutes [44]. Ainsi, la technique de recherche d'ADNtc est de plus en plus simplifiée et devra permettre une pratique plus simple avec des applications de plus en plus larges.

3.2.2.... Et un véritable monitoring génétique

L'ADN tumoral est accessible aux différents temps de la maladie tumorale et permet également ainsi un véritable monitoring génétique de la tumeur. La recherche d'ADN tumoral à plusieurs étapes du traitement est actuellement peu réalisée étant donné son caractère invasif. Or l'acquisition de matériel génétique tumoral à différents temps du diagnostic et du traitement d'un cancer permet de surveiller l'apparition de nouvelles mutations. Murtaza et al. ont recherché une évolution génétique de la tumeur suite à un traitement chez six patients atteints de cancers avancés ovarien, pancréatique et pulmonaire sur un à deux ans par séquençage d'exome sur des prélèvements sanguins répétés [45]. Une mutation de *PIK3CA* (phosphatidylinositol-4,5- bisphosphate 3-kinase, catalytic subunit alpha) est apparue après un traitement par paclitaxel®; une mutation de *RB1* (retinoblastoma 1) est survenue après un traitement au cisplatine®; une mutation de *MED1* (mediator complex subunit 1) a été détectée après un traitement par tamoxifène® et trastuzumab® et, suite à un traitement par lapatinib® chez le même patient la présence d'une mutation de *GAS6* (growth arrest-specific 6) et une mutation de résistance aux anti-EGFR (mutation *EGFR* T790M) après un traitement par gefitinib®. Ainsi, nous pouvons imaginer une adaptation dynamique de la thérapie ciblée à la tumeur du patient grâce à ces techniques non invasives.

4. Conclusion

L'accessibilité des biomarqueurs par un prélèvement non invasif du sang veineux périphérique aux différents temps de la maladie tumorale représente une avancée majeure dans la prise en charge des patients atteints de cancer.

Les CTC sont mises en évidence par des techniques simples et rapides. De nombreuses études montrent l'intérêt clinique, en particulier pronostique, de ce biomarqueur et permet d'envisager son utilisation future en routine.

La détection de l'ADNtc nécessite des techniques sensibles (NGS et PCR digitale) d'utilisation et d'interprétation de plus en plus simple et rapide. La recherche de mutations à visée théranostique sur ADNtc est déjà utilisée en routine clinique et permet d'envisager, dans les prochaines années un véritable monitoring des tumeurs.

Si l'alliance de ces deux biomarqueurs circulants permettant de véritables « snapshots » tumoraux tout au long de la maladie cancéreuse pour une meilleure prise en charge des patients, il nous semble que l'anatomo-pathologiste a encore de beaux jours devant lui devant l'enjeu de la mise en évidence du micro-environnement tumoral qui semble difficile aujourd'hui à appréhender par les biopsies liquides!

Déclaration d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Bockhorn M, Jain RK, Munn LL. Active versus passive mechanisms in metastasis: do cancer cells crawl into vessels, or are they pushed? *Lancet Oncol*. 2007; 8 (5): 444-8.
- [2] Alix-Panabières C, Schwarzenbach H, Pantel K. Circulating tumor cells and circulating tumor DNA. *Annu Rev Med*. 2012; 63: 199-215.
- [3] Diaz LA, Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2014; 32 (6): 579-86.
- [4] Diehl F, Li M, Dressman D, et al. Detection and quantification of mutations in the plasma of patients with colorectal tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102 (45): 16368-73.
- [5] Allard WJ, Matera J, Miller MC, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2004; 10 (20): 6897-904.
- [6] Chaffer CL, Weinberg RA. A perspective on cancer cell metastasis. *Science*. 2011; 331 (6024): 1559-64.
- [7] Alix-Panabières C, Pantel K. Circulating tumor cells: liquid biopsy of cancer. *Clin Chem*. 2013; 59 (1): 110-8.
- [8] Vona G, Sabile A, Louha M, et al. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells. *Am J Pathol*. 2000; 156 (1): 57-63.
- [9] Plaks V, Koopman CD, Werb Z. Cancer. Circulating tumor cells. *Science*. 2013; 341 (6151): 1186-8.
- [10] Lustberg M, Jatana KR, Zborowski M, et al. Emerging technologies for CTC detection based on depletion of normal cells. *Recent Results Cancer Res Fortschritte Krebsforsch Prog Dans Rech Sur Cancer*. 2012; 195: 97-110.
- [11] Rahbari NN, Aigner M, Thorlund K, et al. Meta-analysis shows that detection of circulating tumor cells indicates poor prognosis in patients with colorectal cancer. *Gastroenterology*. 2010; 138 (5): 1714-26.
- [12] Bidard F-C, Peeters DJ, Fehm T, et al. Clinical validity of circulating tumour cells in patients with metastatic breast cancer: a pooled analysis of individual patient data. *Lancet Oncol*. 2014; 15(4): 406-14.
- [13] Ma X, Xiao Z, Li X, et al. Prognostic role of circulating tumor cells and disseminated tumor cells in patients with prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med*. 2014; 35 (6): 5551-60.
- [14] Hofman V, Ilie MI, Long E, et al. Detection of circulating tumor cells as a prognostic factor in patients undergoing radical surgery for non-small-cell lung carcinoma: comparison of the efficacy of the CellSearch Assay™ and the isolation by size of epithelial tumor cell method. *Int J Cancer*. 2011; 129 (7): 1651-60.
- [15] Cui L, Kwong J, Wang CC. Prognostic value of circulating tumor cells and disseminated tumor cells in patients with ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Ovarian Res*. 2015; 8 (1): 38.
- [16] Vona G, Estepa L, Bérout C, et al. Impact of cytomorphological detection of circulating tumor cells in patients with liver cancer. *Hepatol Baltim Md*. 2004; 39 (3): 792-7.
- [17] Khan MS, Kirkwood AA, Tsigani T, et al. Early changes in circulating tumor cells are associated with response and survival following treatment of metastatic neuroendocrine neoplasms. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2015.
- [18] Chinen LTD, de Carvalho FM, Rocha BMM, et al. Cytokeratin-based CTC counting unrelated to clinical follow up. *J Thorac Dis*. 2013; 5 (5): 593-9.
- [19] Ilie M, Long E, Butori C, et al. ALK-gene rearrangement: a comparative analysis on circulating tumour cells and tumour tissue from patients with lung adenocarcinoma. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO*. 2012; 23 (11): 2907-13.
- [20] Marchetti A, Del Gramastro M, Felicioni L, et al. Assessment of EGFR Mutations in Circulating Tumor Cell Preparations from NSCLC Patients by Next Generation Sequencing: Toward a Real-Time Liquid Biopsy for Treatment. *PLoS One*. 2014; 9(8): e103883.
- [21] Abdallah EA, Fanelli MF, Buim MEC, et al. Thymidylate synthase expression in circulating tumor cells: A new tool to predict 5-fluorouracil resistance in metastatic colorectal cancer patients. *Int J Cancer*. 2015; 137 (6): 1397-405.
- [22] Chen C-L, Mahalingam D, Osmulski P, et al. Single-cell analysis of circulating tumor cells identifies cumulative expression patterns of EMT-related genes in metastatic prostate cancer. *The Prostate*. 2013; 73 (8): 813-26.
- [23] Iwanicki-Caron I, Basile P, Toure E, et al. Usefulness of circulating tumor cell detection in pancreatic adenocarcinoma diagnosis. *Am J Gastroenterol*. 2013; 108 (1): 152-5.
- [24] Fiorelli A, Accardo M, Carelli E, et al. Circulating Tumor Cells in Diagnosing Lung Cancer: Clinical and Morphologic Analysis. *Ann Thorac Surg*. 2015; 99 (6): 1899-905.
- [25] Gray JW. Evidence emerges for early metastasis and parallel evolution of primary and metastatic tumors. *Cancer Cell*. 2003; 4 (1): 4-6.
- [26] Ilie M, Hofman V, Long-Mira E, et al. «Sentinel» circulating tumor cells allow early diagnosis of lung cancer in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One*. 2014; 9 (10): e111597.
- [27] Stott SL, Hsu C-H, Tsukrov DI, et al. Isolation of circulating tumor cells using a microvortex-generating herringbone-chip. *Proc Natl Acad Sci*. 2010; 107 (43): 18392-7.
- [28] Nagrath S, Sequist LV, Maheswaran S, et al. Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology. *Nature*. 2007; 450 (7173): 1235-9.
- [29] Ozkumur E, Shah AM, Ciciliano JC, et al. Inertial focusing for tumor antigen-dependent and -independent sorting of rare circulating tumor cells. *Sci Transl Med*. 2013; 5 (179): 179ra47.
- [30] Sun W, Jia C, Huang T, et al. High-performance size-based microdevice for the detection of circulating tumor cells from peripheral blood in rectal cancer patients. *PLoS One*. 2013; 8 (9): e75865.
- [31] Xu T, Lu B, Tai Y-C, Goldkorn A. A cancer detection platform which measures telomerase activity from live circulating tumor cells captured on a microfilter. *Cancer Res*. 2010; 70 (16): 6420-6.
- [32] Maheswaran S, Haber DA. Ex Vivo Culture of CTCs: An Emerging Resource to Guide Cancer Therapy. *Cancer Res*. 2015; 75 (12): 2411-5.
- [33] Bettgeowda C, Sausen M, Leary RJ, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med*. 2014; 6 (224): 224ra24.
- [34] Chang DK, Grimmond SM, Biankin AV. Pancreatic cancer genomics. *Curr Opin Genet Dev*. 2014; 24: 74-81.
- [35] Maire F, Micard S, Hammel P, et al. Differential diagnosis between chronic pancreatitis and pancreatic cancer: value of the detection of KRAS2 mutations in circulating DNA. *Br J Cancer*. 2002; 87 (5): 551-4.
- [36] Bazan V, Bruno L, Augello C, et al. Molecular detection of TP53, Ki-Ras and p16INK4A promoter methylation in plasma of patients with colorectal cancer and its association with prognosis. Results of a 3-year GOIM (Gruppo Oncologico dell'Italia Meridionale) prospective study. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO*. 2006; 17 Suppl 7: vii84-90.
- [37] Lecomte T, Berger A, Zinzindohoué F, et al. Detection of free-circulating tumor-associated DNA in plasma of colorectal cancer patients and its association with prognosis. *Int J Cancer*. 2002; 100 (5): 542-8.
- [38] Sefrioui D, Sarafan-Vasseur N, Beaussire L, et al. Clinical value of chip-based digital-PCR platform for the detection of circulating DNA in metastatic colorectal cancer. *Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver*. 2015; 47(10): 884-90.
- [39] Chang-Hao Tsao S, Weiss J, Hudson C, et al. Monitoring response to therapy in melanoma by quantifying circulating tumour DNA with droplet digital PCR for BRAF and NRAS mutations. *Sci Rep*. 2015; 5: 11198.
- [40] Danese E, Minicozzi AM, Benati M, et al. Comparison of genetic and epigenetic alterations of primary tumors and matched plasma samples in patients with colorectal cancer. *PLoS One*. 2015; 10 (5): e0126417.
- [41] Douillard J-Y, Ostoros G, Cobo M, et al. Gefitinib treatment in EGFR mutated caucasian NSCLC: circulating-free tumor DNA as a surrogate for determination of EGFR status. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. 2014; 9 (9): 1345-53.

[42] Couraud S, Vaca-Paniagua F, Villar S, et al. Noninvasive diagnosis of actionable mutations by deep sequencing of circulating free DNA in lung cancer from never-smokers: a proof-of-concept study from BioCAST/IFCT-1002. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2014; 20 (17): 4613-24.

[43] Sefrioui D, Perdrix A, Sarafan-Vasseur N, et al. Short report: Monitoring ESR1 mutations by circulating tumor DNA in aromatase inhibitor resistant metastatic breast cancer. Int J Cancer 2015; 137(10): 2513-9.

[44] Quantitative assessment of BRAF V600 mutant cell-free tumor DNA from plasma as a diagnostic and therapeutic biomarker in pts with BRAF V600 mutant melanoma. J Clin Oncol 2015; 33 (suppl; abstr 9015)

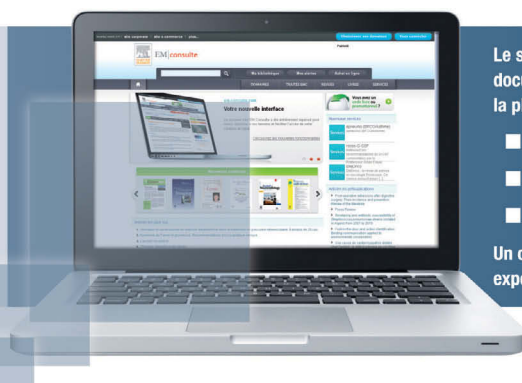
[45] Murtaza M, Dawson S-J, Tsui DWY, et al. Non-invasive analysis of acquired resistance to cancer therapy by sequencing of plasma DNA. Nature. 2013; 497 (7447): 108-12.

DÉCOUVREZ **EM-consulte.com**
LA BASE DOCUMENTAIRE LA PLUS COMPLÈTE DE VOTRE PROFESSION



NOUVELLE VERSION

+ SIMPLE
+ EFFICACE
+ PERFORMANTE
+ ERGONOMIQUE...



Le site EM-consulte.com est la base documentaire médicale et paramédicale la plus riche pour les professionnels de santé.

- 130 revues Elsevier Masson,
- 43 traités EMC
- + de 500 000 articles

Un contenu éditorial validé par les meilleurs experts de votre spécialité.

CONNECTEZ-VOUS DÈS AUJOURD'HUI* | www.EM-consulte.com

* Plate-forme réservée aux particuliers et aux étudiants

ELSEVIER MASSON SAS, société par actions simplifiée au capital de 675 376 € - RCS Nanterre B 542 037 031 - N° TVA intracommunautaire FR01542037031 - Locataire-gérant de Société d'édition de l'Association d'enseignement médical des Hôpitaux de Paris. Crédits photos : ©DR, © Okeo-Fotolia.com

Les cellules tumorales circulantes en oncologie thoracique: enjeux, pièges et limites

Paul Hofman^{a, b}

RÉSUMÉ

La notion de cellules tumorales circulantes (CTCs) existe depuis plus d'une centaine d'années mais malgré le nombre croissant de publications sur ce sujet, notamment chez les patients atteints d'un cancer du poumon, la détection et la caractérisation des CTCs ne sont pas utilisées en routine dans les hôpitaux français. L'enjeu est cependant très important pour l'amélioration du diagnostic et du pronostic, mais aussi pour la mise en évidence de biomarqueurs prédictifs d'une réponse thérapeutique, voir pour le dépistage du cancer dans les populations à haut risque. Plusieurs éléments peuvent expliquer l'absence du développement actuel de cette approche dans le cadre de l'offre de soin: 1) la multitude des méthodes proposées conduit à des difficultés de validation multicentrique, 2) ces méthodes présentent une sensibilité et une spécificité variable, 3) leur coût n'est pas maîtrisé dans le système de santé français, et, 4) il existe d'autres biomarqueurs circulants concurrentiels en oncologie thoracique comme l'analyse de l'ADN tumoral libre circulant, voir des microARN plasmatiques. Au-delà des enjeux, cet article décrit les principaux pièges et les limites actuelles de la recherche des CTCs en pathologie thoracique.

Cellules tumorales circulantes – enjeux – méthodes de détection – limites – oncologie thoracique.

1. Introduction

Le cancer est l'une des causes majeures de décès, responsable de 13 % de la mortalité mondiale. Le cancer du poumon est la première cause de décès par cancer et, en Europe, le nombre de décès lié à ce cancer en 2014 a été estimé à 271 000 cas [1]. L'augmentation de ce cancer chez les femmes en Europe fait que ce cancer sera la première cause de mortalité par cancer chez la femme en 2020, dépassant alors la mortalité par cancer du sein. Le cancer du poumon a un pronostic péjoratif avec moins de 10 % de survie à 5 ans dans les stades III-IV. Ce pronostic s'explique par le fait que plus de 75 % de ces cancers sont diagnostiqués à un stade tardif et ne sont pas opérables.

a Laboratoire de Pathologie Clinique et Expérimentale

Centre hospitalo-universitaire de Nice - Hôpital Pasteur
30, avenue de la Voie romaine - B.P. 69
06001 Nice cedex 01

b Biobanque (BB-0033-00025)

Centre hospitalo-universitaire de Nice - Hôpital Pasteur
30, avenue de la Voie romaine - B.P. 69
06001 Nice cedex 01

* Correspondance

hofman.p@chu-nice.fr

article reçu le 10 octobre, accepté le 19 octobre 2015

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

SUMMARY

Circulating tumour cells in thoracic oncology: challenges, pitfalls and limits

The concept of circulating tumour cells (CTCs) probable exists since more one century. However, despite an increased number of publications related to this subject (notably in lung cancer patients), the detection and the characterization of CTCs are not routinely used in the French hospitals. However, the challenge of CTCs detection is pivotal in lung cancer patients for diagnosis and prognosis optimisation, but also for allowing better drug response prediction and in future development of screening tests in high risk populations. Different parameters can explain the current break for CTCs concept development in daily routine, 1) many different methods exist leading difficulties for multicenter validation of the results, 2) these methods have a variable sensitivity and specificity, 3) the cost recovery of these methods is not consistent with the current French health care system, and, 4) other circulating biomarkers (such as the circulating free tumoural DNA and the circulating microRNA) are becoming competitive in thoracic oncology. Beyond the issues, this review describes the main pitfalls and limits which are likely to restrict today the development of this approach in thoracic oncology.

Circulating tumour cells – challenges – methods for detection – limits – thoracic oncology.

Une chimio/radiothérapie et/ou des thérapies ciblées sur des altérations génomiques relativement rares sont proposées chez ces patients non opérables. Malgré les progrès thérapeutiques la survie des patients est courte [2-4]. Les résultats des premiers essais cliniques utilisant une immunothérapie ciblant l'axe PD1/PD-L1 ont fait naître de nouveaux espoirs pour prolonger la survie de ces patients [5,6]. Toutefois, l'immunothérapie ne permettra pas de les guérir. La seule possibilité de guérir un cancer pulmonaire est de l'opérer à un stade précoce (stades I-II), mais malgré cela, plus de 30 % des patients récidiveront dans les 5 ans. Dans ce contexte la recherche d'autres pistes pour améliorer l'offre de soin en oncologie thoracique est une nécessité. La pratique des « biopsies liquides » (prises de sang) à visée diagnostic, pronostic, théranostic ou de dépistage, est une porte ouverte pour cette optimisation [7, 8]. La « biopsie liquide » permet d'analyser des biomarqueurs plasmatiques (à partir de l'ADN tumoral libre ou des microARN circulants) [9-11]. Des cellules non hématologiques circulantes (CNHC), en particulier les cellules tumorales circulantes (CTCs) (cellules cancéreuses et non cancéreuses), ou plus rarement des cellules endothéliales circulantes peuvent être

également isolées et caractérisées [12,13]. Les données obtenues à partir de ces différents biomarqueurs apportent des informations soit similaires, soit complémentaires [14]. Malgré l'engouement entourant le concept des CTCs en oncologie thoracique, il existe une rupture très nette entre le nombre de publications et d'études dans ce domaine et une mise en pratique dans le cadre de l'offre de soin, en particulier dans les hôpitaux français. Cette revue a pour but de décrire les principaux pièges pouvant apparaître dans le champ d'application des CTCs en oncologie thoracique et les freins actuels pour le développement de ces tests de détection dans les hôpitaux.

2. Techniques de détection et terminologie

Les techniques utilisées pour la mise en évidence des différents biomarqueurs sanguins sont très nombreuses et ont été détaillées dans plusieurs revues récentes [12,15,16]. Certaines de ces techniques sont développées depuis plusieurs dizaines d'années et d'autres sont très récentes [12,15,16]. Les méthodes de détection des CTCs présentent probablement toutes des avantages et des inconvénients et elles ont une sensibilité et une spécificité variable [12,15,16]. Ces techniques ont été rapportées dans de nombreuses revues récentes [15, 16]. Très brièvement, il s'agit de techniques directes ou de techniques indirectes. La plupart des techniques directes aboutissent à la visualisation des CTCs qui peuvent être colorées par des colorations usuelles (hématoxyline éosine, May Grunwald Giemsa) et peuvent faire l'objet d'analyses immunocytochimique, d'hybridation *in situ*, voir d'analyse génomique plus complexe. Les techniques indirectes n'autorisent pas l'identification morphologique des CTCs et reposent par exemple sur la capture des CTCs par des réactions antigène anticorps.

La terminologie employée dans le domaine des CTCs doit être précisée. Une confusion peut exister entre les termes, cellule tumorale circulante, cellule cancéreuse circulante, cellule métastatique circulante et cellule épithéliale circulante. Ainsi, une cellule tumorale circulante peut être identifiée chez des patients développant une pathologie tumorale bénigne (adénome thyroïdien, parathyroïdien, etc.). Une cellule tumorale circulante présentant tous les critères cytologiques de malignité correspond dans la grande majorité des cas à une cellule cancéreuse circulante, mais en l'absence de biomarqueur de malignité, la nature maligne de cette cellule ne peut pas être formellement affirmée. De même, le potentiel métastatique d'une cellule cancéreuse circulante ne peut en aucun cas être affirmé et seule la corrélation avec l'évolution clinique peut faire dire que les cellules visualisées initialement pouvaient correspondre à des cellules métastatiques circulantes. Enfin, des cellules épithéliales circulantes, de nature non tumorale, peuvent parfois circuler dans le sang, notamment en cas de pneumothorax ou de pathologie inflammatoire ou infectieuse pulmonaire. Ces cellules ne possèdent pas, dans la grande majorité des cas, de critères cytologiques de malignité. Enfin les CTCs peuvent circuler de manière isolée ou bien groupée en amas plus ou plus moins volumineux, appelés microembolus tumorale circulant. D'une façon générale, le terme de cellules non hématologiques circulantes

(CNHCs) peut être employé pour désigner l'ensemble de ces cellules captées dans le sang et ne correspondant pas à des globules blancs.

3. Enjeux actuels concernant la détection et la caractérisation des CTCs en oncologie thoracique

Plusieurs orientations peuvent être envisagées dans le cadre de la détection et de la caractérisation des CTCs en oncologie thoracique. Une étude récente laisse envisager la possibilité de permettre un meilleur dépistage du cancer du poumon grâce à cette approche [17]. Ce dépistage pourrait s'envisager dans les populations à haut risque de développer un tel cancer, essentiellement les sujets tabagiques développant une bronchopneumopathie chronique obstructive et un emphyseme, voir les patients développant une fibrose pulmonaire [17]. En cas de nodule pulmonaire de malignité indéterminée sur les examens radiologiques thoraciques, cette approche pourrait aussi autoriser en théorie un diagnostic plus précoce de cancer et orienter les patients vers une intervention chirurgicale. L'absence actuelle d'étude multicentrique bien conduite reste un frein majeur à cette mise en place. Ce qui semble plus réaliste dès maintenant c'est la possibilité, grâce à la détection des CTCs, de pouvoir évaluer le pronostic, de prédire la réponse thérapeutique à certaines thérapies ciblées ou d'identifier des biomarqueurs de résistance à des thérapies [12, 18]. Enfin, différents travaux de recherche translationnelle réalisés dans le domaine des CTCs ont permis et font évoluer en permanence nos connaissances sur l'histoire naturelle et la pathophysiologie des cancers pulmonaires [16,19]. Ainsi, les mécanismes de la transition épithélio-mésenchymateuse, d'anoikis, d'interaction possible des CTCs avec le «micro-environnement liquide» (neutrophiles, lymphocytes, plaquettes) et des données nouvelles de génomique permettant de mieux caractériser les CTCs peuvent être analysés [12, 20,21].

4. Pièges et limites actuelles concernant la détection et la caractérisation des CTCs en oncologie thoracique

Le constat à ce jour est que les applications cliniques liées à la détection des CTCs sont exceptionnelles, voire totalement inexistantes pour la plupart des oncologues pneumologues [22]. Ainsi, les techniques de détection utilisées sont encore réservées à certains centres travaillant sur des essais cliniques ou sur des projets de recherche translationnelle [12,21,22]. Plusieurs raisons peuvent expliquer les difficultés d'un tel transfert vers la clinique :

- L'absence de standardisation des pratiques : certaines méthodes déployées, comme la méthode CellSearch a eu jusqu'à présent un quasi-monopole dans le domaine des CTCs, laissant peu de place au développement des autres méthodes.
- L'absence le plus souvent d'étude multicentrique : la validation des résultats obtenus dans un seul centre et décrits dans une publication isolée est toujours indis-

pensable. Un déploiement rapide dans plusieurs hôpitaux est une nécessité incontournable pour comparer les approches technologiques et leur faisabilité en routine clinique, et reproduire les résultats obtenus par une seule équipe ou centre.

- La difficulté pour maîtriser et contrôler la phase pré analytique afin d'obtenir des résultats « robustes » et reproductibles. En particulier, les délais entre la prise de sang et l'analyse peuvent être une contrainte en cas d'un tampon de conservation présent dans le tube ne permettant pas d'assurer suffisamment longtemps une bonne stabilité des éléments cellulaires.

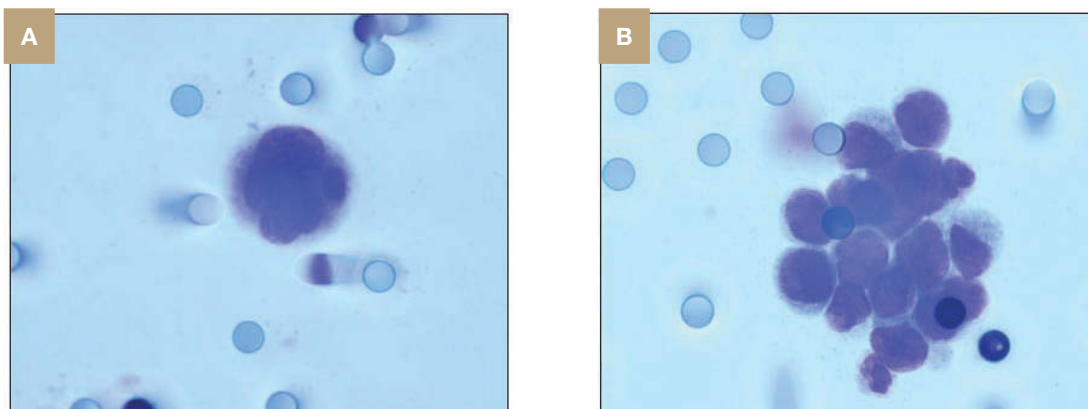
- L'absence d'intégration des techniques de détection au sein des hôpitaux compte tenu de leur coût difficilement maîtrisable dans le modèle économique actuel.

- Une sensibilité et une spécificité variable des méthodes indirectes pour une application dans le domaine de l'oncologie thoracique. La méthode indirecte la plus utilisée et la plus citée dans les publications est la méthode CellSearch [12]. Cette méthode est la seule à avoir obtenu à ce jour le feu vert de la *Food Drug Administration* (FDA) aux USA pour la détection des CTCs chez des patients atteints d'un cancer du sein, du colon ou de la prostate en phase métastatique. Cependant la FDA ne recommande pas cette méthode pour la prise en charge des patients atteints d'un cancer du poumon en phase métastatique. Ainsi, même si certaines études ont montré l'intérêt potentiel d'utiliser cette technique dans les cancers pulmonaires, celle-ci apparaît assez peu sensible et peu spécifique [21]. Une grande partie des CTCs isolées chez les patients atteints d'un cancer du poumon n'expriment pas ou peu les marqueurs épithéliaux et ne peuvent pas de ce fait être capturées par le marqueur anti-Epcam et les anticorps anti-cytokératines utilisés par ce système. Les CNHCs peuvent ne pas correspondre à des cellules circulantes cancéreuses et être comptabilisées à tort comme tel par le système CellSearch dont les capacités d'identification morphologique sont faibles. Les CTCs associées au cancer du poumon forment fréquemment des amas cellulaires assez volumineux et composés de plusieurs cellules tumorales. Ces amas sont mal ou non comptabilisés par le système CellSearch. D'autres techniques indirectes sont ou ont été utilisées en oncologie thoracique, comme les méthodes par RT-PCR et les systèmes microfluidiques [12, 16]. Aucune de ces méthodes ne répond aux attentes actuelles des cliniciens dans le cadre d'une application quotidienne.

- Une sensibilité et une spécificité variable des méthodes directes [12, 15]. La majorité des méthodes directes repose sur un principe de filtration sanguine au travers de filtres munis de pores laissant passer les cellules hématologiques en retenant à leur surface des cellules dont la taille ne leur permet pas de traverser le filtre. Ces dernières cellules correspondent majoritairement à des CNHCs et plus particulièrement à des CTCs. Certaines cellules hématologiques sont parfois retenues à la surface des filtres et peuvent être visibles. Il s'agit le plus souvent de cellules sanguines associées aux CNHCs (plaquettes et plus rarement lymphocytes et/ou polynucléaires). Il n'est pas exclu que dans de rares circonstances des mégacaryocytes circulants puissent être visibles à la surface des filtres. Les méthodes d'analyse directe par filtration permettent ainsi une analyse

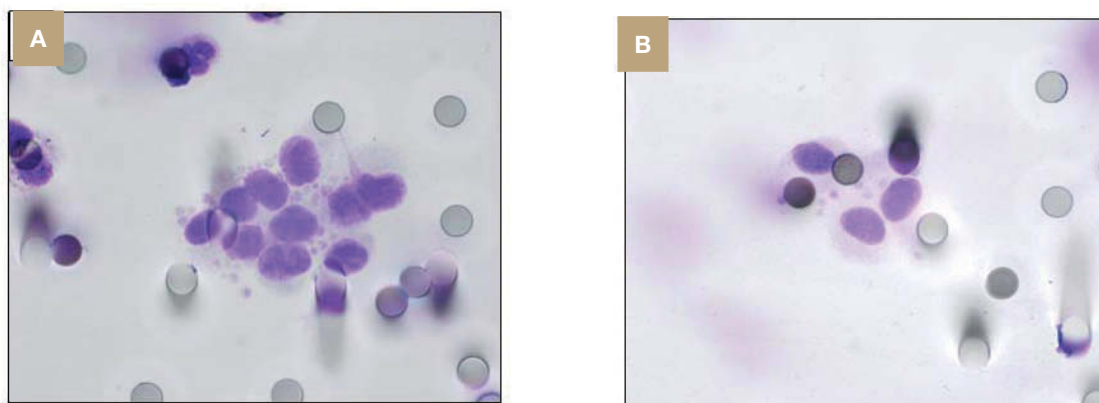
cytomorphologique précise des CNHC [23-28]. Certaines techniques d'isolement des CTCs sont également classées comme étant des méthodes directes, comme la méthode Epispat [15]. Les techniques directes sont probablement d'une sensibilité variable, ne permettant d'isoler toutes les cellules d'intérêt, notamment certaines CTCs pourraient passer à travers les pores du filtre sous l'effet de la pression ou compte tenu de leur taille plus réduite. De nombreuses cellules retenues à la surface du filtre sont d'identification difficile et elles sont assimilées à des cellules de potentiel de malignité incertain [25]. L'absence de biomarqueurs de malignité applicables en immunocytochimie ne permet pas d'affirmer cette malignité, mais aussi le caractère potentiellement invasif de ces cellules. La quantification des cellules isolées à la surface du filtre est difficile et elle est semi-quantitative. L'absence d'automatisation et de reconnaissance d'image par des logiciels adaptés rend ces techniques encore « chronophagiques » pour le cytologiste. La cytologie sanguine appliquée à l'analyse des cellules circulantes issues de cancers solides est encore un domaine méconnu des cytologistes à ce jour. Cette cytologie est peu développée et non enseignée dans les laboratoires d'antomo-cyto-pathologie. Les critères cytologiques permettant de définir qu'une CNHC est une cellule maligne sont les mêmes que ceux appliqués dans les autres domaines de la cytopathologie [25] (*figure 1*). Il paraît donc légitime que ce champ d'application soit réservé aux pratiques professionnelles des cytologistes, au même titre que la cytopathologie « classique » réalisée à partir de ponction d'organe, d'étalement ou de cytologie en phase liquide. Dans ce contexte, il est important de noter que les mêmes pièges diagnostiques que ceux existant en cytopathologie « classique » sont présents dans le cadre de la cytopathologie sanguine des tumeurs solides. Ces pièges concernent des patients ayant par exemple une pathologie thyroïdienne ou parathyroïdienne [27] (*figure 2*). Ainsi, des CNHC peuvent présenter des images de malignité incertaine et parfois des critères cytologiques de malignité, alors que la pathologie associée est une pathologie bénigne. Des CNHC peuvent être détectées sans pathologie tumorale associée, par exemple chez des patients ayant un pneumothorax (*figure 3*). Ces dernières cellules sont probablement comptabilisées comme étant des CTCs si l'on utilise des techniques indirectes comme la méthode CellSearch. D'une façon générale les méthodes de filtration et d'isolement des CNHCs par la taille présentent quelques inconvénients et nécessitent d'être optimisées avant de pouvoir être utilisées en routine quotidienne. La filtration sanguine doit se faire dans un délai relativement court (généralement inférieur à trois heures) après ponction veineuse. Le développement d'un tampon permettant de conserver plus longtemps le sang avant la filtration devrait permettre prochainement une utilisation plus facile à partir de sites éloignés les uns des autres. Hormis une analyse phénotypique par immunocytochimie ou par hybridation *in situ*, les CNHCs visualisées sur les filtres sont difficilement exploitables en routine pour des analyses de génomique et de transcriptomique. Hormis des approches réalisées à partir de lignées cellulaires, la caractérisation génomique des CTCs isolées chez des patients atteints d'un cancer du poumon n'a pas été bien évaluée à ce jour en utilisant des techniques directes. Enfin, certaines méthodes de

Figure 1. Cellules non hématologiques circulantes (CNHC) présentant des critères cytologiques de malignité (isolement par la technique ISET) détectées chez un patient ayant un cancer du poumon.



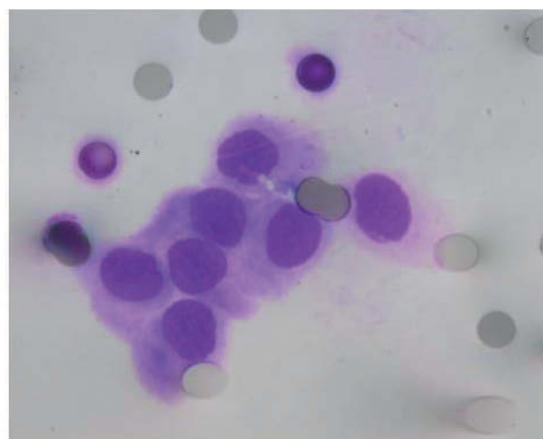
A. CNHC isolée.
B. CNHC groupées en microembolus tumoral circulant (A et B, May Grunwald Giemsa, x 1000).

Figure 2. Cellules non hématologiques circulantes présentant des critères cytologiques



A. critères cytologiques de malignité incertains
B. critères cytologiques de bénignité (isolement par la technique ISET) détectées chez un patient présentant un adénome thyroïdien (A et B, May Grunwald Giemsa, x 1000)

Figure 3. Cellules non hématologiques circulantes présentant des critères cytologiques de bénignité (isolement par technique ISET) chez un patient présentant un pneumothorax.



(May Grunwald Giemsa x 1000).

filtration nécessitent un volume sanguin parfois important (10 ml) pour un « monitoring » régulier à mettre en place chez des patients fragiles.

5. Conclusion

Dans le domaine de l'oncologie thoracique, la détection et la caractérisation des CTCs sont certainement complémentaires des approches réalisées à partir du compartiment plasmatique en particulier pour la détection des altérations génomiques (mutations de l'EGFR) à partir de l'ADN tumoral libre circulant. Au-delà de pouvoir orienter vers un diagnostic, d'évaluer le pronostic et d'anticiper une réponse à une thérapie ciblée, la recherche de CTCs pourrait permettre aussi de participer au dépistage de cancer pulmonaire dans des populations à haut risque [17, 28-34]. Dans ce contexte des études récentes ouvrent un champ d'investigation très prometteur, soit en isolant et caractérisant des cellules tumorales malignes par une technique de filtration (technique ISET), soit en identifiant une signature

plasmatique de microRNA prédictive de l'apparition d'un cancer pulmonaire [17,35]. Toutefois, plusieurs écueils persistent pour un transfert en clinique de ces approches: l'absence d'études de large envergure déployées sur plusieurs centres, l'absence de maîtrise des coûts dans le système de santé (prise en charge des examens? actes à la nomenclature et remboursement?). Enfin, des études comparatives réalisées dans les mêmes

cohortes de patients et associant l'analyse de l'ADN tumoral plasmatique, des microARNs plasmatiques et des CTCs apporteraient des informations complémentaires sur la physiopathologie des cancers pulmonaires.

Déclaration d'intérêt: l'auteur déclare ne pas avoir de liens d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Malvezzi M, Bertuccio P, Levi F, et al. European cancer mortality predictions for the year 2014. *Ann Oncol* 2014; 25: 1650-1656.
- [2] Lee CK, Brown C, Gralla RJ, et al. Impact of EGFR inhibitor in non-small cell lung cancer on progression-free and overall survival: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105: 595-605.
- [3] Reck M, Popat S, Reinmuth N et al. Metastatic non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2014; 25 (Suppl 3): iii 27-iii39.
- [4] Shaw AT, Yeap BY, Solomon BJ, et al. Effect of crizotinib on overall survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring ALK gene rearrangement: a retrospective analysis. *Lancet Oncol* 2011; 12: 1004-1012.
- [5] Gettinger SN, Horn L, Gandhi L, et al. Overall Survival and Long-Term Safety of Nivolumab (Anti-Programmed Death 1 Antibody, BMS-936558, ONO-4538) in Patients With Previously Treated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol* 2015. pii: JCO.2014.58.3708
- [6] Jia M, Feng W, Kang S, et al. Evaluation of the efficacy and safety of anti-PD-1 and anti-PD-L1 antibody in the treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC): a meta-analysis. *J Thorac Dis* 2015;7: 455-461.
- [7] Ignatiadis M, Dawson SJ. Circulating tumor cells and circulating tumor DNA for precision medicine: dream or reality? *Ann Oncol* 2014; 25: 2304-2313.
- [8] Rolfo C, Castiglia M, Hong D, et al. Liquid biopsies in lung cancer: the new ambrosia of researchers. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1846:539-546.
- [9] Buttitta F, Di Nicola M, Malatesta S, et al. microRNAs derived from circulating exosomes as noninvasive biomarkers for screening and diagnosing lung cancer. *J Thorac Oncol* 2013; 8: 1156-1162.
- [10] Fenizia F, De Luca A, Pasquale R, et al. EGFR mutations in lung cancer: from tissue testing to liquid biopsy. *Future Oncol* 2015; 11: 1611-1623.
- [11] Sanfiorenzo C, Ilie MI, Belaid A, et al. Two panels of plasma microRNAs as non-invasive biomarkers for prediction of recurrence in resectable NSCLC. *PLoS One* 2013; 8: e54596. doi: 10.1371/journal.pone.
- [12] Hofman V, Ilie M, Long E, et al. Detection of circulating tumor cells from lung cancer patients in the era of targeted therapy: promises, drawbacks and pitfalls. *Curr Mol Med* 2014; 14: 440-456.
- [13] Ilie M, Long E, Hofman V, et al. Clinical value of circulating endothelial cells and of soluble CD146 levels in patients undergoing surgery for non-small cell lung cancer. *Br J Cancer* 2014; 110: 1236-1243.
- [14] Ilie M, Hofman V, Long E, et al. Current challenges for detection of circulating tumor cells and cell-free circulating nucleic acids, and their characterization in non-small cell lung carcinoma patients. What is the best blood substrate for personalized medicine? *Ann Transl Med* 2014; 2: 107. doi: 10.3978/j.issn.2305-5839.2014.08.11
- [15] Alix-Panabières C, Pantel K. Technologies for detection of circulating tumor cells: facts and vision. *Lab Chip* 2014; 14:57-62.
- [16] Alix-Panabières C, Pantel K. Challenges in circulating tumour cell research. *Nat Rev Cancer* 2014; 14: 623-631.
- [17] Ilie M, Hofman V, Long-Mira E, et al. « Sentinel » circulating tumor cells allow early diagnosis of lung cancer in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One* 2014b; 9: e111597. doi: 10.1371/journal.pone.0111597.
- [18] Pantel K, Diaz LA Jr, Polyak K. Tracking tumor resistance using 'liquid biopsies'. *Nat Med* 2013b; 19: 676-677.
- [19] Conteduca V, Zamarchi R, Rossi E, et al. Circulating tumor cells: utopia or reality? *Future Oncol* 2013; 9: 1337-1352.
- [20] Hodgkinson CL, Morrow CJ, Li Y, et al. Tumorigenicity and genetic profiling of circulating tumor cells in small-cell lung cancer. *Nat Med* 2014; 20: 897-903.
- [21] Krebs MG, Metcalf RL, Carter L, et al. Molecular analysis of circulating tumour cells-biology and biomarkers. Evaluation and prognostic significance of circulating tumor cells in patients with non-small-cell lung cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2014; 11: 129-144.
- [22] Pantel K, Alix-Panabières C. Real-time liquid biopsy in cancer patients: fact or fiction? *Cancer Res* 2013; 73: 6384-6388.
- [23] Desitter I, Guerrouahen BS, Benali-Furet N, et al. A new device for rapid isolation by size and characterization of rare circulating tumor cells. *Anticancer Res* 2011; 31: 427-441.
- [24] Freidin MB, Tay A, Freydina DV, et al. An assessment of diagnostic performance of a filter-based antibody-independent peripheral blood circulating tumour cell capture paired with cytomorphologic criteria for the diagnosis of cancer. *Lung Cancer* 2014; 85: 182-185.
- [25] Hofman V, Long E, Ilie M, et al. Morphological analysis of circulating tumour cells in patients undergoing surgery for non-small cell lung carcinoma using the isolation by size of epithelial tumour cell (ISET) method. *Cytopathology* 2012; 23:30-38.
- [26] Vona G, Sabile A, Louha M, et al. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells. *Am J Pathol* 2000; 156: 57-63.
- [27] Hofman VJ, Ilie MI, Bonnetaud C, et al. Cytopathologic detection of circulating tumor cells using the isolation by size of epithelial tumor cell method: promises and pitfalls. *Am J Clin Pathol* 2011; 135: 146-156.
- [28] Hofman V, Bonnetaud C, Ilie MI, et al. Preoperative circulating tumor cell detection using the isolation by size of epithelial tumor cell method for patients with lung cancer is a new prognostic biomarker. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 827-835.
- [29] Krebs MG, Sloane R, Priest L, et al. Evaluation and prognostic significance of circulating tumor cells in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1556-1563.
- [30] Hou JM, Krebs MG, Lancashire L, et al. Clinical significance and molecular characteristics of circulating tumor cells and circulating tumor microemboli in patients with small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2012; 30: 525-532.
- [31] Hofman V, Ilie MI, Long E, et al. Detection of circulating tumor cells as a prognostic factor in patients undergoing radical surgery for non-small-cell lung carcinoma: comparison of the efficacy of the CellSearch Assay™ and the isolation by size of epithelial tumor cell method. *Int J Cancer* 2011; 129: 1651-1660.
- [32] Ilie M, Long E, Butori C, et al. ALK-gene rearrangement: a comparative analysis on circulating tumour cells and tumour tissue from patients with lung adenocarcinoma. *Ann Oncol* 2012; 23: 2907-2913.
- [33] Paillet E, Adam J, Barthélémy A, et al. Detection of circulating tumor cells harboring a unique ALK rearrangement in ALK-positive non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2013; 31: 2273-2281.
- [34] Paillet E, Auger N, Lindsay CR, et al. High level of chromosomal instability in circulating tumor cells of ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2015 Apr 6. pii: mdv165.
- [35] Montani F, Marzi MJ, Dezi F, et al. miR-Test: a blood test for lung cancer early detection. *J Natl Cancer Inst* 2015; 107: djv063. doi: 10.1093/jnci/djv063.

QCM Évaluez-vous !

*Ceci est un questionnaire à choix multiples.
Par conséquent, il est possible que certaines questions
puissent bénéficier de plusieurs réponses possibles.
Dans ce cas, il s'agit de les cocher toutes.*

1 Les mastocytoses cutanées:

- ☐ A. sont des maladies fréquentes
- ☐ B. ne sont jamais familiales
- ☐ C. peuvent rarement atteindre l'enfant
- ☐ D. sont le plus souvent associées à une atteinte systémique
- ☐ E. peuvent se manifester sous la forme d'une tumeur cutanée isolée

2 Le diagnostic de mastocytoses cutanées:

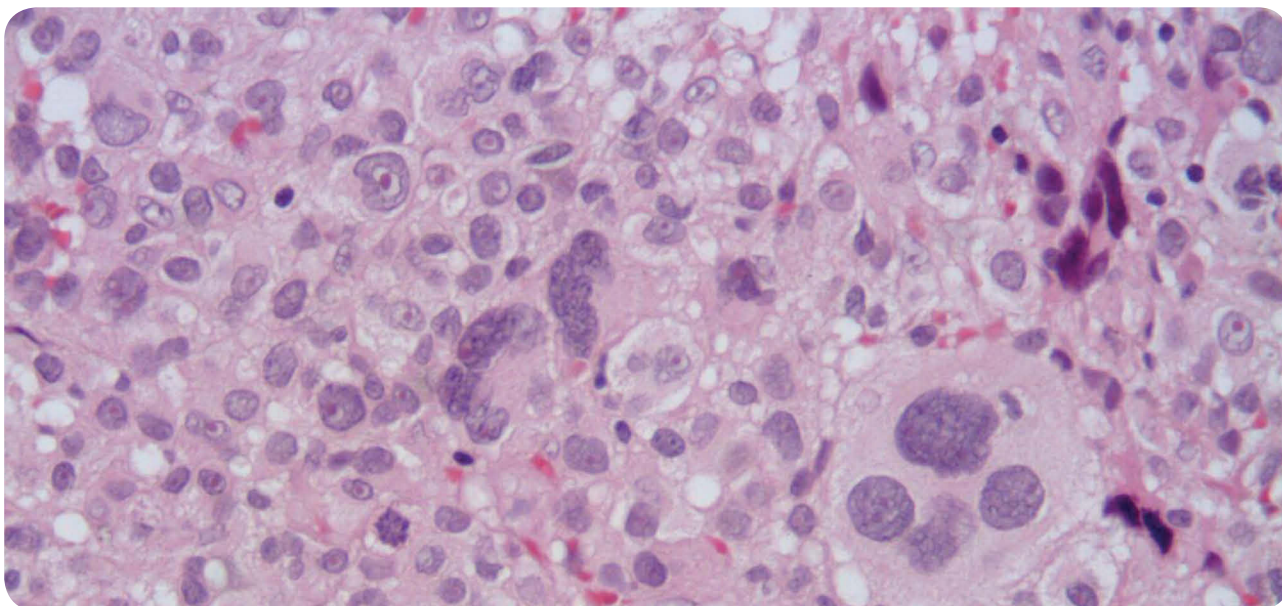
- ☐ A. est toujours difficile
- ☐ B. nécessite une coloration par le Bleu de Toluidine ou le Giemsa
- ☐ C. se fait plus facilement après immunohistochimie avec le c-Kit
- ☐ D. se fait facilement sur l'examen de la lame colorée par l'HE
- ☐ E. est toujours facile après immunohistochimie adéquate

3 Quel est le marqueur le plus spécifique de mastocytes anormaux:

- ☐ A. c-kit (CD117)
- ☐ B. Tryptase
- ☐ C. CD25
- ☐ D. CD2
- ☐ E. CD30

4 Quelle la forme cytologique pathologique la plus fréquente dans les mastocytoses systémiques:

- ☐ A. Mastocyte rond
- ☐ B. Mastocyte dégranulé
- ☐ C. Compaction des granulations
- ☐ D. Mastocyte fusiforme
- ☐ E. Mastocyte multinucléé



5 Une cellule tumorale circulante:

- ☐ A. peut être isolée dans le sang grâce à sa taille
- ☐ B. peut être isolée par son phénotype EpCam +
- ☐ C. peut être mise en culture
- ☐ D. est très facile à retrouver dans un prélèvement veineux
- ☐ E. peut être caractérisée d'un point de vue génétique

6 A propos de l'ADN tumoral circulant:

- ☐ A. il est très facile de le mettre en évidence car présent en de grande quantité
- ☐ B. peut être caractérisé grâce à des techniques comme le NGS ou la digital PCR
- ☐ C. Permet un monitoring du patient
- ☐ D. peut permettre la prescription d'une thérapie ciblée anti-EGFR dans le cancer du poumon
- ☐ E. n'est détectable que chez les patients métastatiques

7 La détection de cellules tumorales circulantes a été rapportée comme utile à visée:

- ☐ A. diagnostique
- ☐ B. pronostique
- ☐ C. théragnostique
- ☐ D. de suivi de maladie résiduelle
- ☐ E. prédictive de cancer chez des sujets à risque

8 Les cellules tumorales sont habituellement dans le sang à une fréquence d'une cellule:

- ☐ A. sur 100
- ☐ B. sur 1 000
- ☐ C. sur 10 000
- ☐ D. sur 100 000
- ☐ E. sur 1 000 000

9 L'ADN tumoral circulant représente une fraction de l'ADN libre circulant, le plus souvent:

- ☐ A. 20 %
- ☐ B. 10 %
- ☐ C. 2 %
- ☐ D. moins de 1 %
- ☐ E. 0.01 %

10 Les cellules tumorales circulantes peuvent faire l'objet:

- ☐ A. de coloration HES
- ☐ B. de coloration MGG
- ☐ C. d'hybridation *in situ*
- ☐ D. d'immunocytochimie
- ☐ E. d'analyse génomique

11 La détection des cellules tumorales circulantes est un acte:

- ☐ A. reconnu à la nomenclature par la CCCAM d'anatomie pathologique
- ☐ B. reconnu par la FDA pour l'une des méthodes les plus connues
- ☐ C. dont la sensibilité varie selon la méthodologie de détection
- ☐ D. devant être pratiqué idéalement peu de temps après le prélèvement de sang
- ☐ E. innovant

12 Les cellules tumorales circulantes:

- ☐ A. représentent des cellules non hématopoïétiques circulantes
- ☐ B. sont difficiles à différencier parfois de cellules non tumorales non hématopoïétiques circulantes
- ☐ C. nécessitent une formation spécifique pour fiabiliser leur reconnaissance
- ☐ D. ont été rapportées dans des pathologies bénignes mais correspondaient en fait à des cellules non hématopoïétiques circulantes
- ☐ E. ont été détectées chez des sujets à risque de cancer du poumon qui ont ensuite développer secondairement un cancer.

RÉPONSES AUX QUESTIONS

Voir en première page de la rubrique
Entreprise Labo, page 73

Guyane: intoxication fatale au paraquat

Patrice Bourée^{a,*}, Alireza Ensaf^b

1. Introduction

La toxicité des produits herbicides est bien connue, en particulier celle du paraquat, à l'origine d'intoxications humaines volontaires ou plus rarement accidentelles. Il en résulte des brûlures chimiques du tube digestif, une cytolysé hépatique, des troubles des fonctions rénale et pulmonaire et dont le pronostic dépend de la dose absorbée.

2. Observation

Une femme de 42 ans est amenée aux urgences par les pompiers après avoir avalé un désherbant dans un but d'autolyse. D'après l'entourage, il s'agissait d'un produit de couleur verte évoquant du paraquat (**figure 1**). À son arrivée, la patiente est encore consciente, mais ne se rappelle

Figure 1 – Flacon de paraquat.



a Laboratoire de parasitologie

Groupe hospitalier universitaire Paris-Centre – Hôpital Cochin
27, rue du Faubourg Saint-Jacques
75679 Paris cedex 14

b Laboratoire de biologie

Centre hospitalier Ouest Guyanais
97393 Saint-Laurent-du-Maroni – Guyane

* Correspondance

patrice.bouree@cch.aphp.fr

Figure 2 – Liquide de lavage gastrique.



Figure 3 – Test très positif.



plus du nom du produit, ni de la quantité absorbée. Elle présente des vomissements, une dyspnée importante et une diarrhée verdâtre. La pression artérielle est normale et la saturation en oxygène est de 99 %. Un bilan biologique est demandé et un traitement est rapidement mis en route: lavage gastrique d'un volume de 10 litres, retirant un liquide verdâtre (**figure 2**), introduction par voie nasogastrique de 5 ampoules de 50 mL de charbon activé et pose d'une perfusion comprenant: furosémide, hydroxyzine, midazolam et méthylprednisolone.

Le test de recherche du paraquat est très positif dans les urines et dans le liquide de tubage gastrique (**figure 3**). Le bilan biologique montre un syndrome inflammatoire et des perturbations hépatiques et rénales (**tableau I**),

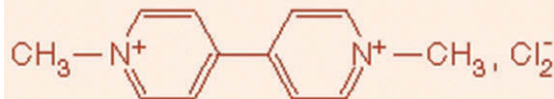
Tableau I – Évolution des constantes sanguines de la patiente en 2 jours.

Constantes sanguines	J. 1	J. 2
Hématies	4 400 000 /mm ³	4 880 000 /mm ³
Hémoglobine	16 g/100 ml	17,5 g/100 mL
VGM	102 μ ³	100 μ ³
Leucocytes	15 600 /mm ³	27 000 /mm ³
Poly. neutrophiles	11 528 /mm ³	21 438 /mm ³
Poly. éosinophiles	62 /mm ³	27 /mm ³
Lymphocytes	3 385 /mm ³	4 293 /mm ³
Monocytes	624 /mm ³	1 161 /mm ³
Plaquettes	492 000 /mm ³	556 000 /mm ³
CRP	1 mg/L	35 mg/L
Bilirubine totale	17 μmol/L	32 μmol/L
ASAT	-	175 UI/L
ALAT	18 UI/L	63 UI/L
γGT	-	82 UI/L
Urée	3 μmol/L	8 μmol/L
Créatininémie	107 μmol/L	331 μmol/L
Débit de filtration glomérulaire	53 mL/min	15 mL/min

article reçu le 31 décembre, accepté le 10 janvier 2015

© 2015 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Figure 4 – Formule du paraquat.



alors qu'un bilan effectué deux ans auparavant était tout à fait normal. L'état général de la patiente se dégrade très rapidement et elle décède le deuxième jour.

3. Discussion

3.1. Un produit encore très utilisé

Le paraquat (1,1'- diméthyl - 4,4' bipyridinium) (figure 4) est un herbicide de contact de la famille des pyridines, agissant en inhibant la photosynthèse de la chlorophylle. Ce produit était très utilisé dans le monde depuis 1962, occupant même le 7^e rang des produits phytosanitaires, en raison de son faible coût, de sa facilité d'utilisation et de sa rémanence limitée dans l'environnement. Mais il est très toxique sur l'organisme humain, transformant l'oxygène moléculaire en anion superoxyde, responsable de lésions cellulaires et de perturbations du métabolisme oxydatif cellulaire. La toxicité du paraquat est donc due à la formation de radicaux oxygénés qui est entretenue par une déplétion cellulaire en NADPH [1]. Une peroxydation des lipides membranaires des cellules et des organites (comme les mitochondries) entraîne une altération de la membrane cellulaire et une cytolysse. Au niveau pulmonaire, la destruction des cellules alvéolaires provoque une alvéolite aiguë puis une fibrose extensive. Ceci est dû à l'importante vascularisation du poumon, à sa grande capacité à fixer le paraquat et à activer le cycle d'oxydo-réduction du produit grâce à l'oxygène [1].

Du fait de sa toxicité, le paraquat est interdit en Europe depuis juillet 2007, où la réglementation était déjà très stricte, limitant à 40 g/L le taux de paraquat dans les produits commercialisés, avec addition obligatoire d'une substance émétisante. Depuis son interdiction, les intoxications avec ce produit sont devenues rares en France, mais restent encore assez fréquentes dans les départements d'outre-mer (en particulier : Réunion, Guyane et Antilles dans les plantations de bananes) et dans les pays en voie de développement, avec une mortalité représentant entre 50 % et 80 % des décès par ingestion volontaire de pesticides dans le monde. Le nombre d'intoxications mortelles par le paraquat est d'environ 20 cas par million d'habitants, avec une grande variété selon les pays : États-Unis (0,004/million) ; Grande-Bretagne (0,66/million) ; Irlande (7/million) ; Japon (11/million). En Corée, il y a environ 2 000 cas mortels par an, du fait de la grande disponibilité du produit dans toutes les familles [2]. Une analyse de l'intoxication par le paraquat en Chine a confirmé, sur 1 571 cas, la prédominance des actes suicidaires par voie orale (tableau II) [3].

Tableau II – Intoxication par le paraquat en Chine.

Circonstances	Contamination
Suicide 73,6 % Accident domestique 12,4 % Accident de travail 13,5 %	Orale 81,3 % Percutanée 15,3 % Inhalation 3,3 %
Selon Yin, 2013.	

3.2. Intoxication aiguë

Les intoxications aiguës sont plus fréquemment la conséquence d'un acte suicidaire que d'une intoxication accidentelle.

L'intoxication aiguë se déroule en trois étapes [4] :

1. phase initiale : quelques heures après l'ingestion du produit, apparaissent des douleurs pharyngées, abdominales et des vomissements. La diarrhée peut conduire à une déshydratation importante. Une fibroscopie met alors en évidence une œsophagite et une gastrite ;
2. vers la 12^e heure, survient la phase de cytolysse hépatique et d'atteinte rénale par tubulopathie aiguë pouvant évoluer vers le décès [5] ;
3. dans les 5 à 10 jours suivants, apparaît la fibrose pulmonaire [6] évoluant vers l'insuffisance respiratoire aiguë d'issue fatale. Un pronostic peut être plus favorablement envisagé si moins de 20 % du poumon est atteint [7].

En cas d'intoxication par le paraquat, chez une femme enceinte, des troubles pulmonaires apparaissent chez le fœtus, même en cas de césarienne effectuée en urgence [8].

Après ingestion, l'absorption intestinale du paraquat est rapide mais faible. Seulement 10 % du produit sont réellement absorbés en 6 h avant de pénétrer dans les tissus (poumon, foie, rein). L'élimination s'effectue essentiellement par voie rénale, sous forme inchangée (90 %), en 12 à 24 heures [9].

- L'ingestion d'une dose de 20 mg/kg correspond à une intoxication légère, ne provoquant que des vomissements et de la diarrhée.
- L'ingestion de 20 à 40 mg/kg provoque des aphtes, une dyspnée, une tachycardie, une agitation [7] et entraîne une insuffisance rénale aiguë par nécrose tubulaire et une alvéolite aiguë avec un œdème pulmonaire qui va évoluer vers la fibrose pulmonaire et se manifester par une hypoxie sévère.
- L'ingestion de 40 mg/kg provoque les mêmes symptômes que précédemment auxquels s'ajoute un hoquet et surtout une évolution mortelle en 1 à 4 jours par défaillance multiviscérale.

3.3. Diagnostic analytique

Après ingestion, le produit est décelable immédiatement dans les liquides gastriques, dans l'heure pour les urines et la concentration sérique est maximale aux alentours de la 4^e heure.

La recherche de paraquat s'effectue très simplement par le test colorimétrique au dithionate de sodium en milieu alcalin. Ce test est rapide et fiable.

Figure 5 – Test négatif.

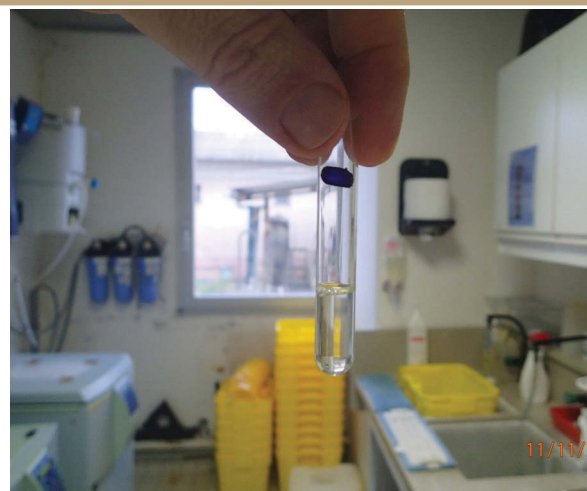
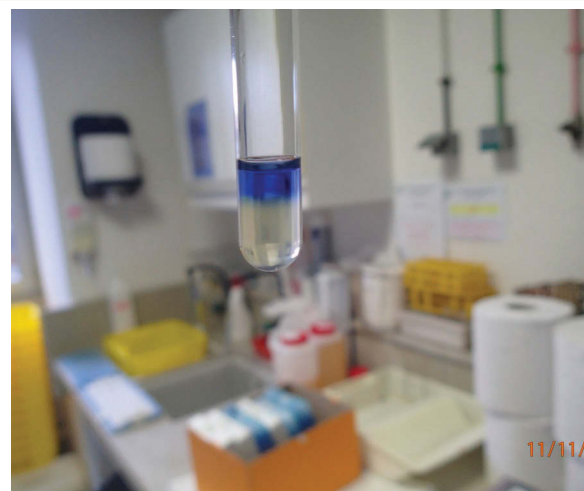


Figure 6 – Test positif.



Si le liquide reste toujours incolore 4 heures après l'ingestion, la réaction est dite négative (**figure 5**), le patient n'ayant pas ingéré de paraquat, ou la quantité présente est très inférieure à 1 mg/L. En revanche, si le liquide devient bleu, la réaction est dite positive, confirmant l'intoxication par le paraquat et une concentration supérieure à 1 mg/L (**figure 6**).

Un indice de sévérité a été établi, en multipliant la concentration sanguine de paraquat par le délai écoulé depuis l'ingestion [10]. Si cet indice est inférieur à 10, le pronostic est généralement favorable, alors que s'il est supérieur à 50, l'évolution est toujours mortelle [11]. De même, un taux sanguin de paraquat supérieur à 1 mg/l est de très mauvais pronostic [12].

Une analyse rétrospective a été effectuée par le Centre hospitalier de l'Ouest Guyanais (Saint-Laurent-du-Maroni). Elle portait sur 26 patients, âgés de 6 à 75 ans, ayant abouti à 20 décès dans un délai de 11 à 21 jours et à 6 guérisons. L'analyse de ces cas a permis de dégager des facteurs de pronostic (**tableau III**). Un mauvais

pronostic est prévisible si la dose ingérée est forte (dose mortelle > 40 mg/kg), si le patient présente une insuffisance rénale, une acidose métabolique et un taux plasmatique de paraquat > 2 mg/L. Le pronostic est meilleur en cas de réplétion gastrique avant l'ingestion de paraquat et si le taux urinaire de paraquat reste inférieur à 1 mg/L [13].

4. Traitement

Il n'existe ni antidote ni consensus thérapeutique concernant l'intoxication par le paraquat. Habituellement, une évacuation digestive est réalisée par lavage gastrique, mais discutée [14], ainsi qu'une administration d'un adsorbant (charbon activé 1 g/kg ou de terre à foulon 150 g par litre d'eau) et d'apomorphine en sous-cutané. Sont également préconisées une perfusion de mannitol à 10 % et d'un anti-oxydant : [N-acétyl-cystéine, déferoxamine, vitamine C (4 g/j), vitamine E (250 mg/j)] [15]. Pour certains auteurs, l'administration de corticoïdes et de cyclophosphamide peut avoir un effet bénéfique [16], de même que l'hémo-perfusion et l'hémodialyse utilisées avec des résultats divers [17]. Il faut impérativement éviter l'oxygénothérapie qui aggraverait la fibrose pulmonaire. Malheureusement, quel que soit le traitement, les séquelles pulmonaires sont fréquentes [18].

5. Conclusion

Devant une intoxication par un produit à usage herbicide dont le plus utilisé est le paraquat, le traitement doit être mis en route le plus rapidement possible. En même temps, il faut demander la recherche du produit dans le sang, les urines et éventuellement le liquide de lavage gastrique pour avoir la confirmation du diagnostic clinique et poursuivre la thérapeutique, en sachant que le pronostic est souvent très mauvais.

Déclaration d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Tableau III – Tableau comparatif des sujets survivants et décédés après ingestion de paraquat.

Critères	Survivants (n = 6)	Décédés (n = 20)
Sex-ratio F/H	5/1	11/9
Âge moyen (ans)	14 (6-21)	27 (13-75)
Quantité ingérée (mg/kg)	17 (8-43)	214 (6-1429)
Température à l'admission	37°2 C	36°1 C
Paraquurie faible	50 %	5 %
Paraquurie forte	16 %	90 %
Kaliémie (mmol/L)	3,6 (3,2-4,2)	2,6 (2,1-4)
DFG (ml/mn/1,73 m ²)	98,5 (54-214)	51 (23-108)
CPK (UI/L)	315	275
Réserve alcaline (mmol/L)	23,8	22

DFG : débit de filtration glomérulaire; CPK : créatine phosphokinase [in 13].

Références

- [1] Ernouf D, Boussa N, Legras A, et al. Intoxication aiguë au paraquat associée à une forte consommation d'alcool. *J Pharm Clin* 1997; 16:90-6.
- [2] Seok SJ, Gil HW, Jeong DS, et al. Paraquat intoxication in subjects who attempt suicide: why they chose paraquat. *Korean J Intern Med* 2009;24:247-51.
- [3] Yin Y, Guo X, Zhang SL, et al. Analysis of paraquat intoxication epidemic (2002-2011) within China. *Biomed Environ Sci* 2013;26(6):509-12.
- [4] Gil HW, Kang MS, Yang JO, et al. Association between plasma paraquat level and outcome of paraquat poisoning in 375 paraquat poisoning patients. *Clin Toxicol* 2008;46:515-8.
- [5] Vale JA, Meredith TJ, Buckley BM. Paraquat poisoning: clinical features and immediate general management. *Hum Toxicol* 1987;6(1):41-7.
- [6] Saravu K, Sekhar S, Pai A, et al. Paraquat. A deadly poison : report of a case and review. *Indian J Crit Care Med* 2013;17(13):182-4.
- [7] Gil HW, Hong JR, Jang SH, et al. Diagnostic and therapeutic approach for acute paraquat intoxication. *J Korean Med Sci* 2014;29:1441-9.
- [8] Chomchai C, Tiawilai A. Fetal poisoning after maternal paraquat ingestion during third trimester of pregnancy: Case report and literature review. *J Med Toxicol* 2007;3(4):182-6.
- [9] Gawarammana IB, Buckley NA. Medical management of paraquat ingestion. *Brit J Clin Pharmacol* 2011;72:745-57.
- [10] Kervégant M, Schmitt C, Martin E, et al. Intoxications au paraquat en Guyane française: utilisation persistante lors de comportements suicidaires en outre-mer. *Ann Toxicol Anal* 2013;25(2):71-3.
- [11] Senarathna L, Eddleston M, Wilks MF, et al. Prediction of outcome after paraquat poisoning by measurement of the plasma paraquat concentration. *QJ Med* 2009;102:251-9.
- [12] Mégarbane B. Intoxication aiguë par la paraquat. *Encyclop Orphanet* 2003
- [13] Flechel A. Etude descriptive des intoxications de paraquat dans l'ouest guyanais, de 2008 à 2014. *Mémoire DES, Caen*, 2014.
- [14] Grunbaum AM, Gosselin S. Intoxication aiguë au paraquat: description d'un cas. *Bull Inf Toxicol Quebec* 2012;28(1):7-13.
- [15] Cherukuri H, Pramoda K, Rohini D, et al. Demographics, clinical characteristics and management of herbicide poisoning in tertiary care hospital. *Toxicol Int* 2014;21(2):209-13.
- [16] Descatha A, Mégarbane B, Garcia V, et al. Delayed immunosuppressive treatment in life-threatening paraquat ingestion: A case report. *J Med Toxicol* 2009;5(2):76-9.
- [17] Hampson EC, Pond SM. Failure of haemoperfusion and haemodialysis to prevent death in paraquat poisoning. A retrospective review of 42 patients. *Med Toxicol Adverse Drug Exp* 1988;3:64-71.
- [18] Yamashita M, Yamashita M, Ando Y. A long-term follow-up of lung function in survivors of paraquat poisoning. *Hum Exp Toxicol* 2000;19:99-103.

DESRIPTIF

Un homme âgé de 70 ans, sans antécédent particulier, présente une adénopathie cervicale gauche mesurant 3 cm de grand axe et évoluant depuis 3 mois. Le reste de l'examen clinique est normal. Le bilan biologique est sans particularité. Il n'existe pas de syndrome inflammatoire. L'électrophorèse des protéines est normale sans pic monoclonal.

Le scanner thoraco-abdomino-pelvien ne montre pas d'adénopathie profonde.

Le Pet-Scan montre une hyperactivité au niveau d'adénopathies cervicales et jugulo-carotidiennes gauches, sans autre localisation (SUV max entre 8 et 12).

Une biopsie exérèse ganglionnaire cervicale a été réalisée.

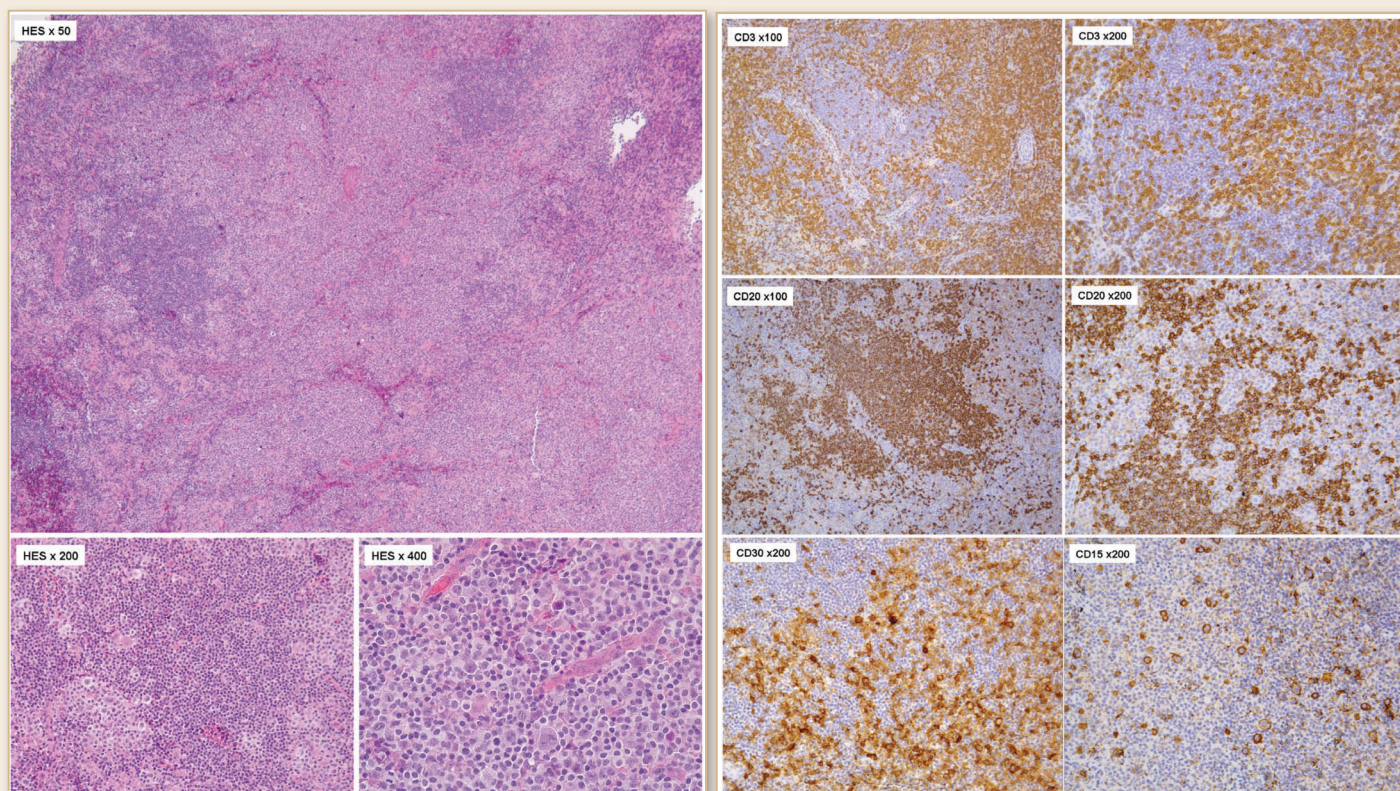


Figure 1 – Histologie du ganglion intra-parotidien et immunohistochimie.

QUESTIONS

1. Quelles sont vos deux principales hypothèses diagnostiques ?
2. Quelles immunohistochimies complémentaires demandez-vous ?

RÉPONSES AU VERSO



a Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques
Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades, AP-HP, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, 149 rue de Sèvres, 75015 Paris.

* Correspondance
Julie.bruneau@aphp.fr

Julie Bruneau^a, Thierry Molina^a

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

R1 • Lymphome de Hodgkin classique

La présence de cellules de grande taille de type Hodgkin ou Reed-Sternberg CD20- CD30+ CD15+ peut faire évoquer ce diagnostic. Cependant, l'absence de sclérose nodulaire, et surtout, la richesse en cellules de taille moyenne au sein des zones T CD3+ CD30+ et formant des « nids » dans les follicules lymphoïdes, sont inhabituelles.

• Lymphome T périphérique NOS

L'expansion des zones T interfolliculaires associée à la présence de nids de cellules lymphoïdes T de taille moyenne détruisant les follicules lymphoïdes, doit faire suspecter le diagnostic de lymphome T périphérique NOS, de variante folliculaire. Ce lymphome doit faire rechercher l'expression de marqueurs lymphoïdes folliculaires helper (TFH), un « trou phénotypique » lymphoïde T et la présence de l'EBV.

R2 PAX5, sonde EBER, CD10, CXCL13, PD1, CD7, CD5.

Les aspects histologiques et immunohistochimiques évoquent en premier lieu le diagnostic de lymphome T périphérique NOS de variante folliculaire, associé à l'EBV.

La présence de grandes cellules tumorales de type Hodgkin ou Reed-Sternberg CD20-, PAX5+ faible, CD30+, CD15+, EBV+ (EBER) ne doit pas faire remettre en question le diagnostic de

lymphome T périphérique NOS, et a été décrite dans cette variante folliculaire de lymphome T périphérique [1, 2].

Le pronostic et la prise en charge thérapeutique sont totalement différents pour le lymphome de Hodgkin classique et le lymphome T périphérique NOS, d'où l'importance d'un diagnostic adapté. Une étude de clonalité lymphoïde T est souhaitable pour compléter la démarche diagnostique afin de documenter la monoclonalité T du lymphome T périphérique.

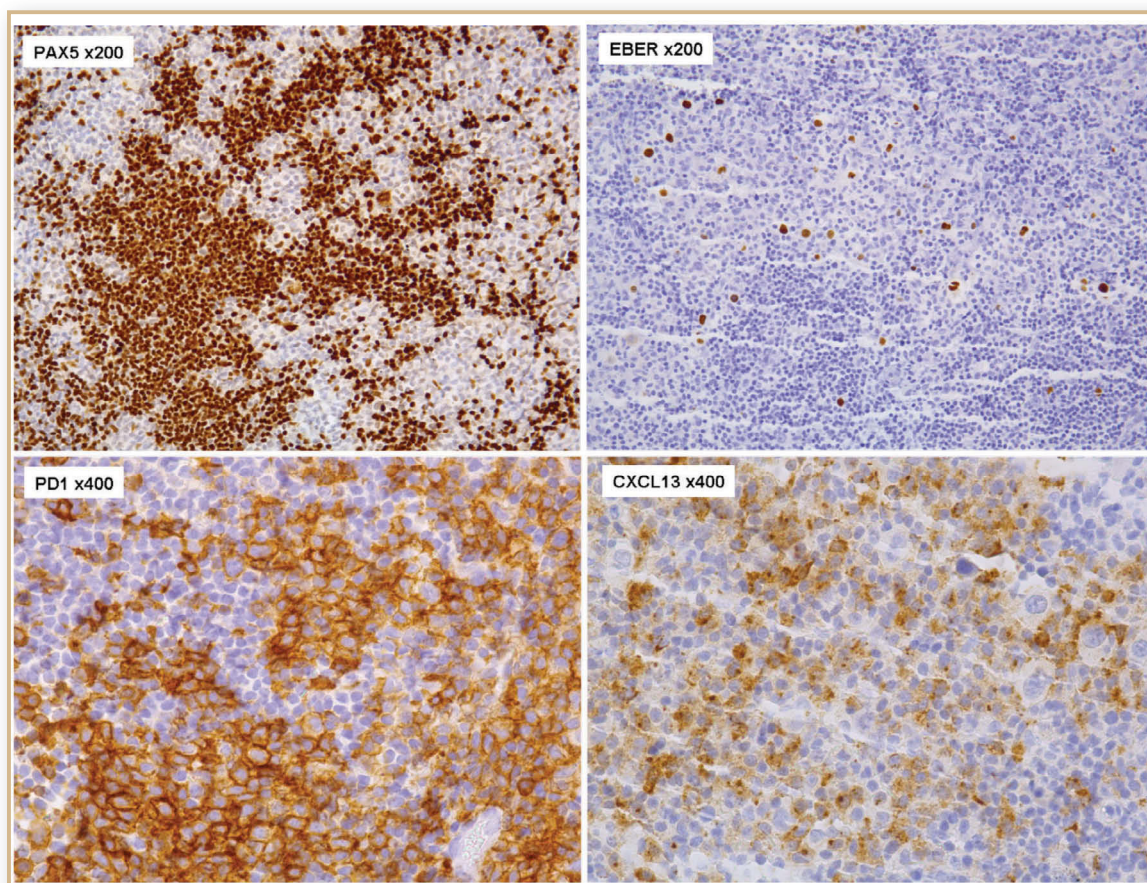


Figure 3 – Les cellules lymphoïdes tumorales de taille moyenne expriment vivement PD1 et CXCL13, signant la nature TFH de la prolifération tumorale (CD10 est aussi un marqueur TFH, ici il est négatif, non montré). Les grandes cellules de type Hodgkin ou Reed-Sternberg expriment faiblement PAX5 et sont EBV+ (EBER).

Bibliographie

[1] Moroch J, Copie-Bergman C, de Leval L, Plonquet A, Martin-Garcia N, Delfau-Larue MH, Molinier-Frenkel V, Belhadj K, Haioun C, Audouin J, Swerdlow SH, Marafioti T, Gaulard P. Follicular peripheral T-cell lymphoma expands the spectrum of classical Hodgkin lymphoma mimics. *Am J Surg Pathol*. 2012 Nov;36(11):1636-46.

[2] Nicolae A, Pittaluga S, Venkataraman G, Vijnovich-Baron A, Xi L, Raffeld M, Jaffe ES. Peripheral T-cell lymphomas of follicular T-helper cell derivation with Hodgkin/Reed-Sternberg cells of B-cell lineage: both EBV-positive and EBV-negative variants exist. *Am J Surg Pathol*. 2013 Jun;37(6):816-26.



DROIT BANCAIRE

Garantie des dépôts

Un arrêté précise les informations qui doivent être délivrées à la clientèle des banques sur la garantie des dépôts

Un arrêté du 27 octobre 2015* du ministre chargé de l'Économie précise les informations que les établissements adhérents au Fonds de garantie des dépôts et de résolution doivent communiquer à leur clientèle potentielle et aux titulaires d'un dépôt éligible à la garantie. Cet arrêté précise également les informations que le Fonds de garantie doit faire figurer sur son site internet. Il vient compléter l'ordonnance 2015-1024 du 20 août 2015 portant diverses dispositions d'adaptation de la législation au droit de l'Union européenne en matière financière, qui a modifié l'article L 312-16 du Code monétaire et financier relatif à cette garantie, en transposant la directive 2014/49 du 16 avril 2014 relative aux systèmes de garantie des dépôts.

Les informations qui suivent doivent être délivrées à la clientèle des banques avant l'entrée en relation contractuelle et après la conclusion du contrat.

Information permanente

Avant la conclusion de tout contrat, de toute convention ou contrat-cadre relatifs à un compte ou à des dépôts, les établissements de crédit doivent fournir à la personne concernée un document contenant les informations de base relatives à la garantie des dépôts, conforme à un formulaire type figurant *en annexe* de l'arrêté. Ce document peut être joint ou intégré aux conditions générales ou aux conditions particulières du projet de contrat, de convention ou de contrat-cadre.

La prise de connaissance de ce formulaire par la personne concernée sera attestée soit par sa signature, soit par la signature des conditions particulières s'il est joint ou intégré à celles-ci ou aux conditions générales auxquelles ces conditions particulières se rapportent, soit par la signature du contrat-cadre. Cette disposition s'applique à tous les contrats conclus depuis le 1^{er} novembre 2015.

Au plus tard le 4 juillet 2016, les clients des établissements de crédit devront être informés régulièrement lorsqu'ils sont titulaires d'un compte sur lequel figurent des sommes éligibles à la garantie des dépôts : ainsi pour les comptes faisant l'objet d'un relevé périodique, cette information devra figurer soit sous forme d'une mention d'éligibilité sur chaque relevé, soit dans un envoi annuel auquel sera joint le formulaire type prévu ci-dessus ; pour les comptes ne faisant pas l'objet d'un relevé périodique, cette information sera fournie une fois par an au moyen du formulaire type, sauf si le dépôt est convenu pour une période inférieure à un an.

Lorsqu'un client reçoit ses relevés de compte par voie électronique, ces informations lui seront communiquées par voie électronique ou sur papier, s'il en fait la demande.

Les informations relatives à la garantie des dépôts accompagnant un message publicitaire seront limitées à une simple mention du Fonds de garantie des dépôts et de résolution, si ce dernier garantit le produit concerné.

Information en cas de changement structurel

En cas de fusion, ou de transformation d'une filiale en succursale ou d'opération similaire, les clients doivent en être informés au moins un mois avant que l'opération prenne effet. Le collège de supervision de l'Autorité de contrôle prudentiel et de résolution (ACPR) peut néanmoins, pour des raisons tenant au secret des affaires ou à la stabilité financière, autoriser que cette information intervienne dans un délai plus court.

Les clients ont alors un délai de trois mois suivant la notification de cette opération pour retirer ou transférer vers un autre établissement de crédit, sans encourir aucune pénalité, la part de leurs dépôts éligibles à la garantie qui dépasse le niveau de garantie (en principe 100 000 € ; 500 000 € pour certains dépôts exceptionnels temporaires, comme les sommes provenant de la vente d'un bien d'habitation ou d'une succession), y compris tous les intérêts courus et avantages acquis. Le calcul de cette part est effectué à la date de l'opération. ■■

* Arrêté du 27 octobre 2015 : JO du 30 octobre p. 20181

RÉPONSES AUX QUESTIONS DU QCM (pages 64-65)

- | | | |
|------|--------------|---------------|
| 1. E | 5. A,B,C,E | 9. D |
| 2. C | 6. B,C,D | 10. A,B,C,D,E |
| 3. C | 7. A,B,C,D,E | 11. B,C,D,E |
| 4. D | 8. E | 12. A,B,C,D,E |

FINANCEMENT

Prêt bancaire – accord puis refus

L'accord de principe d'une banque pour consentir un prêt ne lui interdit pas de le refuser.

La restructuration des laboratoires profite plus à certains qu'à d'autres. Les banques ne sont pas les dernières au festin. Raison de plus pour être attentifs aux relations avec elles.

On croit notamment qu'en donnant son accord de principe pour accorder un prêt « sous les réserves d'usage », la banque s'engage à accorder le prêt dans les conditions prévues par l'accord.

En fait, elle **s'engage seulement à poursuivre les négociations**, et non à accorder le prêt dans les conditions prévues par l'accord.

Illustration

Lors de l'achat d'un appartement sous la condition suspensive de l'obtention d'un prêt, l'acheteur avait obtenu d'une banque un « *accord de principe sous les réserves d'usage* » pour un prêt au taux d'intérêt de 4 %. La banque avait ensuite proposé un taux de 4,50 % que l'acheteur n'avait pas accepté. Elle avait finalement refusé d'accorder le prêt en raison d'un taux d'endettement excessif.

L'acheteur avait alors mis en cause la responsabilité de la banque, en faisant valoir qu'ayant donné un accord de principe à un taux déterminé, celle-ci ne pouvait ni le modifier ni refuser le prêt.

Jugé* au contraire que la banque n'avait pas commis de faute. En effet, un accord de principe donné par une banque « sous les réserves d'usage » implique que les conditions définitives de l'octroi de son concours restent à définir et **l'oblige seulement à poursuivre, de bonne foi, les négociations en cours**. La banque, qui n'était pas tenue par le taux de 4 % visé dans l'accord de principe, était en droit, dès lors que les conditions de taux d'emprunt étaient modifiées à la hausse, de proposer un taux définitif de 4,50 % puis, devant le refus de l'acheteur, de mettre fin aux négociations en cours au motif que son taux d'endettement était supérieur à celui figurant dans la demande de prêt (41,14 % au lieu de 35,07 %).

Ainsi, dans les rapports entre la banque et son client, un tel accord ne constitue pas une offre ferme et la banque est libre de subordonner l'octroi du prêt à la réalisation des conditions qu'elle juge utiles, dès lors qu'elle le fait de bonne foi et respecte la loyauté qui préside aux pourparlers contractuels.



© nito

Il faut également savoir qu'en cas de **vente** sous la condition suspensive de l'obtention d'un prêt, la question de savoir si cet accord emporte la réalisation de la condition dans les relations entre l'acquéreur et le vendeur reçoit une réponse plus nuancée. L'attestation de l'existence d'un simple accord de principe est insuffisante pour caractériser la réalisation de la condition. Cette dernière est réputée accomplie dès la délivrance d'une **offre ferme** et sans réserve caractérisant l'obtention d'un prêt conforme aux stipulations contractuelles. La formule d'usage « sous réserve de prise de garanties et des assurances », ou la mention « sous réserve de l'acceptation à l'assurance des emprunteurs », n'empêche pas de considérer que l'offre est ferme. ■■

*Cass. com. 2 juin 2015 n° 14-15.632, D. c/ Sté CIC

Démarchage téléphonique - liste d'opposition

Un décret* du 19 mai 2015 organise les conditions de gestion de la liste d'opposition au démarchage téléphonique.

La loi Hamon du 17 mars 2014 a interdit aux professionnels de démarcher par téléphone tout consommateur inscrit sur une liste d'opposition gérée par un organisme désigné par arrêté du ministre de l'Économie.

Cet organisme sera chargé de vérifier la conformité des fichiers de prospection commerciale des professionnels à la liste d'opposition au démarchage téléphonique qu'il sera chargé de gérer.

Le décret entrera en vigueur le premier jour du quatrième mois suivant celui de la désignation de cet organisme.

La liste d'opposition comportera exclusivement le ou les numéros de téléphone (fixe ou mobile) de chaque consommateur souhaitant s'y inscrire, ainsi que la date et l'heure d'inscription. Cette inscription sera valable pour une durée maximale de trois ans renouvelable.

Le professionnel qui exerce à titre habituel une activité de démarchage téléphonique devra saisir l'organisme de manière régulière, et au moins mensuellement, afin que celui-ci mette en conformité ses fichiers de prospection commerciale avec la liste des oppositions au démarchage. Le professionnel qui a accessoirement recours au démarchage téléphonique devra consulter cet organisme avant toute campagne de démarchage téléphonique.

En contrepartie de l'utilisation des services de l'organisme, les professionnels devront verser une redevance calculée notamment en fonction du nombre et de la taille des fichiers du professionnel ainsi que du nombre de consultations effectuées.

Les agents de la DGCCRF pourront consulter l'organisme pour s'assurer que le professionnel satisfait à ses obligations en matière de démarchage téléphonique. ■■

*Décret 2015-556 du 19 mai 2015: JO du 21 mai p. 8581, rectificatif JO du 23 mai p. 8712

SECRET PROFESSIONNEL

Secret professionnel des professions réglementées

Souvent les clients biologistes des professions réglementées, notaires, experts-comptables, avocats, se demandent si le secret professionnel les protège bien, surtout quand on voit dans la presse comment le secret de l'instruction est, quant à lui, détourné.

Illustration de l'efficacité du secret professionnel

Le vendeur d'un immeuble avait demandé l'annulation de la vente pour dol en produisant devant le juge plusieurs lettres adressées à l'acquéreur et à son mandataire par le notaire qui avait établi l'acte de vente. Le juge avait refusé de prendre en compte ces lettres car elles étaient couvertes par le secret professionnel. Le vendeur avait alors soutenu que le juge n'avait pas respecté le droit à un procès équitable (CESDH art. 6, § 1) car la production des lettres était indispensable à l'exercice de la preuve et proportionnée aux intérêts en présence.

La Cour de cassation a écarté cet argument. Le droit à la preuve résultant du texte précité ne peut pas faire échec à l'intangibilité du secret professionnel du notaire, lequel n'en est délié que par la loi, soit qu'elle impose, soit qu'elle autorise la révélation du secret. Évoquant les relations du notaire avec l'acquéreur et son mandataire lors de la préparation de



© Sydia Productions

l'acte de vente, les lettres produites étaient bien couvertes par le secret professionnel, ce qui justifiait qu'elles soient écartées des débats.

En effet, l'article 6 de la Convention européenne de sauvegarde des droits de l'Homme garantit un droit au procès équitable mais ne réglemente pas l'admissibilité des modes de preuve qui relèvent du droit interne. Il permet toutefois à la Cour européenne des droits de l'Homme de contrôler si une procédure judiciaire considérée dans son ensemble, y compris la présentation des moyens de preuve, revêt un caractère équitable.

En droit interne, chaque partie au procès doit prouver les faits qu'elle invoque conformément à la loi (CPC art. 9). L'obtention de la preuve ne doit donc pas résulter d'une infraction pénale, de la violation du secret professionnel ou encore d'une atteinte à la vie privée. Toutefois, une lettre peut être produite, même si elle porte atteinte à l'intimité de la vie privée et au secret de la correspondance, à condition que sa production soit indispensable pour la partie qui la produit à l'exercice de son droit à la preuve et proportionnée aux intérêts antinomiques en présence, ce que le juge du fond doit contrôler*.

Cette exception n'est pas admise pour une lettre couverte par le secret professionnel auquel est tenu le notaire, sous peine de sanctions pénales (15 000 €; C. pén. art. 226-13) et disciplinaires. Il ne peut y être dérogé que dans les cas prévus par la loi, par exemple, dans le cadre de la lutte contre le blanchiment (C. mon. fin. art. L 561-1 s.).

Ainsi, la lettre adressée par un notaire à l'acquéreur d'un bien ne peut pas être utilisée par le vendeur comme preuve dans le cadre d'une action en nullité de la vente. Elle est couverte par le secret professionnel qui est intangible sauf exception légale. ■■

*Cass. 1^{re} civ. 4 juin 2014 n° 12-21.244 Pando c/ Bajolle.

DROITS DES SOCIÉTÉS

SCP: évaluation des parts en cas de cession



© atScene

Évaluation des parts de SCP – désignation d'un expert – compétence exclusive du président de TGI

Il existe encore des SCP. Elles sont appelées à être regroupées. Il est donc important de bien connaître les méthodes d'évaluation de leurs parts, y compris en cas de contestation.

Dans tous les cas où sont prévus la cession des droits sociaux d'un associé, ou le rachat de ceux-ci par la société, la valeur de ces droits est déterminée, en cas de contestation, par un expert désigné, soit par les parties, soit à défaut d'accord

entre elles, par ordonnance du président du tribunal statuant en la forme des référés et sans recours possible (C. civ. art. 1843-4). Par ailleurs, tout projet de cession à un tiers des parts d'une SCP de médecins doit être notifié à la société et aux associés (CSP art. R 4113-50). C'est identique pour les SCP de biologistes. Si la société refuse de consentir à la cession, elle dispose d'un délai de six mois à compter de la notification de son refus pour notifier à l'associé un projet de cession ou de rachat de ces parts. Si le prix proposé n'est pas accepté par le cédant et si celui-ci persiste dans son intention

SECRET PROFESSIONNEL

Secret professionnel des professions réglementées

Souvent les clients biologistes des professions réglementées, notaires, experts-comptables, avocats, se demandent si le secret professionnel les protège bien, surtout quand on voit dans la presse comment le secret de l'instruction est, quant à lui, détourné.

Illustration de l'efficacité du secret professionnel

Le vendeur d'un immeuble avait demandé l'annulation de la vente pour dol en produisant devant le juge plusieurs lettres adressées à l'acquéreur et à son mandataire par le notaire qui avait établi l'acte de vente. Le juge avait refusé de prendre en compte ces lettres car elles étaient couvertes par le secret professionnel. Le vendeur avait alors soutenu que le juge n'avait pas respecté le droit à un procès équitable (CESDH art. 6, § 1) car la production des lettres était indispensable à l'exercice de la preuve et proportionnée aux intérêts en présence.

La Cour de cassation a écarté cet argument. Le droit à la preuve résultant du texte précité ne peut pas faire échec à l'intangibilité du secret professionnel du notaire, lequel n'en est délié que par la loi, soit qu'elle impose, soit qu'elle autorise la révélation du secret. Évoquant les relations du notaire avec l'acquéreur et son mandataire lors de la préparation de



© Sydia Productions

l'acte de vente, les lettres produites étaient bien couvertes par le secret professionnel, ce qui justifiait qu'elles soient écartées des débats.

En effet, l'article 6 de la Convention européenne de sauvegarde des droits de l'Homme garantit un droit au procès équitable mais ne réglemente pas l'admissibilité des modes de preuve qui relèvent du droit interne. Il permet toutefois à la Cour européenne des droits de l'Homme de contrôler si une procédure judiciaire considérée dans son ensemble, y compris la présentation des moyens de preuve, revêt un caractère équitable.

En droit interne, chaque partie au procès doit prouver les faits qu'elle invoque conformément à la loi (CPC art. 9). L'obtention de la preuve ne doit donc pas résulter d'une infraction pénale, de la violation du secret professionnel ou encore d'une atteinte à la vie privée. Toutefois, une lettre peut être produite, même si elle porte atteinte à l'intimité de la vie privée et au secret de la correspondance, à condition que sa production soit indispensable pour la partie qui la produit à l'exercice de son droit à la preuve et proportionnée aux intérêts antinomiques en présence, ce que le juge du fond doit contrôler*.

Cette exception n'est pas admise pour une lettre couverte par le secret professionnel auquel est tenu le notaire, sous peine de sanctions pénales (15 000 €; C. pén. art. 226-13) et disciplinaires. Il ne peut y être dérogé que dans les cas prévus par la loi, par exemple, dans le cadre de la lutte contre le blanchiment (C. mon. fin. art. L 561-1 s.).

Ainsi, la lettre adressée par un notaire à l'acquéreur d'un bien ne peut pas être utilisée par le vendeur comme preuve dans le cadre d'une action en nullité de la vente. Elle est couverte par le secret professionnel qui est intangible sauf exception légale. ■■

*Cass. 1^{re} civ. 4 juin 2014 n° 12-21.244 Pando c/ Bajolle.

DROITS DES SOCIÉTÉS

SCP: évaluation des parts en cas de cession



© atScene

Évaluation des parts de SCP – désignation d'un expert – compétence exclusive du président de TGI

Il existe encore des SCP. Elles sont appelées à être regroupées. Il est donc important de bien connaître les méthodes d'évaluation de leurs parts, y compris en cas de contestation.

Dans tous les cas où sont prévus la cession des droits sociaux d'un associé, ou le rachat de ceux-ci par la société, la valeur de ces droits est déterminée, en cas de contestation, par un expert désigné, soit par les parties, soit à défaut d'accord

entre elles, par ordonnance du président du tribunal statuant en la forme des référés et sans recours possible (C. civ. art. 1843-4). Par ailleurs, tout projet de cession à un tiers des parts d'une SCP de médecins doit être notifié à la société et aux associés (CSP art. R 4113-50). C'est identique pour les SCP de biologistes. Si la société refuse de consentir à la cession, elle dispose d'un délai de six mois à compter de la notification de son refus pour notifier à l'associé un projet de cession ou de rachat de ces parts. Si le prix proposé n'est pas accepté par le cédant et si celui-ci persiste dans son intention

de céder ses parts, le prix est fixé à la demande de la partie la plus diligente par le président du tribunal de grande instance statuant en référé (CSP art. R 4113-51).

Un médecin exerçant au sein d'une SCP avait informé ses associés de son intention de se retirer. La SCP disposait, conformément à ses statuts, d'un délai de six mois pour présenter à l'associé retrayant un projet de cession de ses parts à un tiers entrant ou, à défaut, un projet de rachat de ces parts toujours identique pour les SCP de biologistes.

Avant l'expiration de ce délai, elle avait sollicité en référé le paiement d'une provision à valoir sur des sommes selon elle soustraites irrégulièrement des comptes de la société par l'associé retrayant. Ce dernier avait alors obtenu reconventionnellement

la désignation d'un expert aux fins d'évaluation de ses parts sociales. Après le dépôt du rapport d'expertise, la SCP avait saisi le juge des référés sur le fondement de l'article R 4113-51 du Code de la santé publique, pour qu'il fixe le prix des parts du cédant à celui proposé par l'expert et constate la réalisation de la vente.

Jugé que faute pour les parties d'avoir eu préalablement recours à la procédure particulière et impérative de désignation de l'expert prévue par l'article 1843-4 du Code civil, il n'entrait pas dans les pouvoirs du juge des référés de fixer le prix des parts sociales litigieuses. ■■

**Cass. 1^{re} civ. 9 avril 2014 n° 12-35.270, Caulliez c/ Vasseur*

TEXTES JURIDIQUES

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 11/11/2015)

Décret n° 2015-1457 du 10 novembre 2015 relatif aux exceptions à l'application du principe « silence vaut acceptation » sur le fondement du 4° du I de l'article 21 de la loi n° 2000-321 du 12 avril 2000 relative aux droits des citoyens dans leurs relations avec les administrations ainsi qu'aux exceptions au délai de deux mois de naissance des décisions implicites, sur le fondement du II de cet article (ordres professionnels)

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031463406&dateTexte=&categorieLien=id>

Décret n° 2015-1458 du 10 novembre 2015 relatif aux exceptions à l'application du principe « silence vaut acceptation » sur le fondement du II de l'article 21 de la loi n° 2000-321 du 12 avril 2000 relative aux droits des citoyens dans leurs relations avec les administrations (ordres professionnels)

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031463429&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 4 novembre 2015 modifiant la liste des familles du domaine de la biologie médicale prévue en annexe I de l'arrêté du 17 octobre 2012 modifié définissant les conditions justificatives de l'entrée effective d'un laboratoire de biologie médicale dans une démarche d'accréditation

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031463457&dateTexte=&categorieLien=id> [Les connaissances exigibles d'un LBM pour l'accréditation]

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 13/11/2015)

Arrêté du 10 novembre 2015 portant classement sur les listes des substances vénéneuses

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031469373&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 10 novembre 2015 portant classement sur les listes des substances vénéneuses

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031469378&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 10 novembre 2015 portant classement sur les listes des substances vénéneuses

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031469383&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 17 juillet 2015 portant autorisation de protocole de recherche sur l'embryon humain en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031469389&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 17 juillet 2015 portant renouvellement de l'autorisation de conservation de cellules souches embryonnaires humaines à des fins de recherche en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031469402&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 17 juillet 2015 portant autorisation de conservation d'embryons humains à des fins de recherche en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031469414&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 9 septembre 2015 modifiant la décision du 30 janvier 2015 portant autorisation d'importation de cellules embryonnaires à des fins de recherche en application des dispositions de l'article L. 2151-6 du code de la santé publique

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031469426&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 15/11/2015)

Arrêté du 14 novembre 2015 autorisant l'utilisation de sulfate d'atropine, solution injectable 40 mg/20 mL PCA antidote des neurotoxiques organophosphorés

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031474539&dateTexte=&categorieLien=id> [Une précaution anti-attentats biologiques]

de céder ses parts, le prix est fixé à la demande de la partie la plus diligente par le président du tribunal de grande instance statuant en référé (CSP art. R 4113-51).

Un médecin exerçant au sein d'une SCP avait informé ses associés de son intention de se retirer. La SCP disposait, conformément à ses statuts, d'un délai de six mois pour présenter à l'associé retrayant un projet de cession de ses parts à un tiers entrant ou, à défaut, un projet de rachat de ces parts toujours identique pour les SCP de biologistes.

Avant l'expiration de ce délai, elle avait sollicité en référé le paiement d'une provision à valoir sur des sommes selon elle soustraites irrégulièrement des comptes de la société par l'associé retrayant. Ce dernier avait alors obtenu reconventionnellement

la désignation d'un expert aux fins d'évaluation de ses parts sociales. Après le dépôt du rapport d'expertise, la SCP avait saisi le juge des référés sur le fondement de l'article R 4113-51 du Code de la santé publique, pour qu'il fixe le prix des parts du cédant à celui proposé par l'expert et constate la réalisation de la vente.

Jugé que faute pour les parties d'avoir eu préalablement recours à la procédure particulière et impérative de désignation de l'expert prévue par l'article 1843-4 du Code civil, il n'entrait pas dans les pouvoirs du juge des référés de fixer le prix des parts sociales litigieuses. ■■

**Cass. 1^{re} civ. 9 avril 2014 n° 12-35.270, Caulliez c/ Vasseur*

TEXTES JURIDIQUES

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 11/11/2015)

Décret n° 2015-1457 du 10 novembre 2015 relatif aux exceptions à l'application du principe «silence vaut acceptation» sur le fondement du 4° du I de l'article 21 de la loi n° 2000-321 du 12 avril 2000 relative aux droits des citoyens dans leurs relations avec les administrations ainsi qu'aux exceptions au délai de deux mois de naissance des décisions implicites, sur le fondement du II de cet article (ordres professionnels)

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031463406&dateTexte=&categorieLien=id>

Décret n° 2015-1458 du 10 novembre 2015 relatif aux exceptions à l'application du principe «silence vaut acceptation» sur le fondement du II de l'article 21 de la loi n° 2000-321 du 12 avril 2000 relative aux droits des citoyens dans leurs relations avec les administrations (ordres professionnels)

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031463429&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 4 novembre 2015 modifiant la liste des familles du domaine de la biologie médicale prévue en annexe I de l'arrêté du 17 octobre 2012 modifié définissant les conditions justificatives de l'entrée effective d'un laboratoire de biologie médicale dans une démarche d'accréditation

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031463457&dateTexte=&categorieLien=id> [Les connaissances exigibles d'un LBM pour l'accréditation]

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 13/11/2015)

Arrêté du 10 novembre 2015 portant classement sur les listes des substances vénéneuses

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031469373&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 10 novembre 2015 portant classement sur les listes des substances vénéneuses

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031469378&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 10 novembre 2015 portant classement sur les listes des substances vénéneuses

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031469383&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 17 juillet 2015 portant autorisation de protocole de recherche sur l'embryon humain en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031469389&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 17 juillet 2015 portant renouvellement de l'autorisation de conservation de cellules souches embryonnaires humaines à des fins de recherche en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031469402&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 17 juillet 2015 portant autorisation de conservation d'embryons humains à des fins de recherche en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031469414&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 9 septembre 2015 modifiant la décision du 30 janvier 2015 portant autorisation d'importation de cellules embryonnaires à des fins de recherche en application des dispositions de l'article L. 2151-6 du code de la santé publique

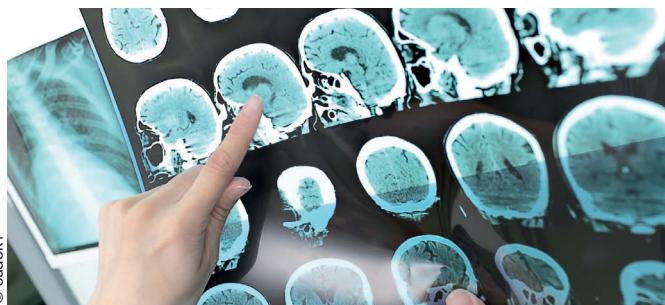
Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031469426&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 15/11/2015)

Arrêté du 14 novembre 2015 autorisant l'utilisation de sulfate d'atropine, solution injectable 40 mg/20 mL PCA antidote des neurotoxiques organophosphorés

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031474539&dateTexte=&categorieLien=id> [Une précaution anti-attentats biologiques]

ÉCHOS PARLEMENTAIRES



Pas assez de millions pour les maladies neurodégénératives ?

Les familles et les associations de patients se réjouissent de l'annonce du Plan pour les maladies neurodégénératives 2014-2019 et des avancées apportées par les plans Alzheimer successifs, dit le sénateur Daniel Laurent, mais en annonçant une liste de pathologies, non exhaustive et susceptible d'évoluer, le gouvernement dévoile un plan sans pour autant en définir le périmètre. Les besoins des sujets malades, liés à leur âge ou à la prédominance des troubles moteurs ou cognitifs par exemple, ne peuvent être envisagés sous un seul angle. Le budget de ce plan inquiète : 470 millions d'euros, dont 270 millions *seulement* pour le volet sanitaire et médico-social, sont aujourd'hui censés répondre aux besoins de plus d'un million de patients, ou de plus de 4 millions en tenant compte des aidants. Donc somme insuffisante pour un plan de cette ampleur et aucune information sur le calendrier et les objectifs à court terme.

Annoncé le 18/11/2014, dit le ministère, le Plan maladies neurodégénératives bénéficiera d'un budget de 435 millions d'euros sur 5 ans : 16,6 millions pour le volet sanitaire, 251 millions pour le volet médico-social, 167 millions pour la recherche - auxquels s'ajoutent les actions du Programme d'investissements d'avenir portant le financement du volet recherche à un total de 200 millions. La première tranche de financement a été inscrite dans la loi 2014-1554 du 22/12/2014 de financement de la Sécurité Sociale pour 2015.

Ce budget permet de déployer les dispositifs médico-sociaux engagés dans le précédent plan et de couvrir l'ensemble de nouvelles mesures. Le plan s'accompagne donc d'engagements financiers malgré le *contexte économique tendu et le budget contraint* de l'État. La mutualisation des actions de recherche et l'effet de synergie attendu bénéficieront à l'ensemble des maladies neurodégénératives, et la mutualisation des expériences de soutien et d'accompagnement médico-social développées pour la maladie d'Alzheimer ou d'un autre type de démence constitue une opportunité pour améliorer la réponse aux besoins des autres maladies neurodégénératives.

Les besoins spécifiques liés aux différentes maladies seront cependant pris en compte. Par exemple, les mesures d'accompagnement dans l'emploi concernent tout particulièrement les patients jeunes comme les patients atteints de sclérose en plaques. Les mesures de l'axe 1 du Plan : *soigner et accompagner tout au long de la vie et sur l'ensemble du territoire*, seront appliquées autant que nécessaire en tenant compte des spécificités.

J.-M. M.

Maladie cœliaque : diagnostic en défaut

La maladie cœliaque est un sujet de santé publique sur lequel députés et sénateurs demandent des comptes au ministère de la Santé. C'est une des maladies digestives les plus fréquentes, elle toucherait une personne sur 100, pour l'Association française des intolérants au gluten (AFDIAG), seuls 10 à 20 % des cas sont diagnostiqués. Elle entraîne une atrophie des villosités intestinales cause de malabsorption à risque de carence nutritionnelle grave. Seul *traitement*, le régime à vie excluant les aliments contenant du gluten, à base de blé, de seigle et d'orge.

L'absence de diagnostic précoce et de prise en charge nutritionnelle engendre des pathologies (anémie, ostéoporose, lymphome du grêle) et des coûts de santé importants. En outre seuls 50 % des patients le respectent, évitant les complications.

L'absence de campagnes d'information favorise de nouvelles *peurs alimentaires* chez des sujets non intolérants au gluten, les conduisant à des interdictions alimentaires en contradiction avec l'alimentation équilibrée recommandée par le Programme national nutrition santé (PNNS).

L'absence de données épidémiologiques et de connaissance de la maladie par les praticiens et de la façon dont les malades y font face empêche d'établir une politique de santé publique efficace. Le ministère peut-il enfin dresser un état des lieux en prévention, dépistage et prise en charge.

La maladie cœliaque est une entéropathie inflammatoire auto-immune, provoquée par un antigène alimentaire, la gliadine du gluten, explique le ministère. Sa prévalence régionale varierait de 0,1 % à 1 %. L'intolérance au gluten peut se manifester chez le nourrisson après introduction du gluten dans son alimentation ou chez l'adulte. Sa présentation est variable, de la forme asymptomatique à la malnutrition sévère, en passant par des plaintes imprécises, digestives ou non. Manifestations les plus communes : douleurs abdominales, diarrhée chronique, amaigrissement, pathologies osseuses, anémie, asthénie.

Le diagnostic est un diagnostic d'élimination, qui repose sur une séquence d'examens (HAS 2007) : recherche des anticorps IgA anti-transglutaminase, ou anticorps IgG anti-transglutaminase + anti-endomysium en cas de déficit en IgA, biopsie du grêle pour recherche de lésions inflammatoires, de la maladie cœliaque, à interpréter en fonction de la clinique ; chez l'enfant, si cet acte est prescrit il nécessite une anesthésie générale.

Les recommandations internationales proposent la recherche diagnostique d'opportunité [les tests biologiques actuels sont suffisamment précis – NDLR] devant un tableau clinique évocateur. On a montré une baisse des anticorps et une régression des lésions grêles si l'observance du régime est correcte, mais on n'a pas montré qu'il apporte un bénéfice aux sujets asymptomatiques¹. Cette pathologie ne justifie pas le dépistage en population générale.

J.-M. M.

1. Erreur : cela vient d'être démontré (NDLR).